

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Pleurotus ostreatus* Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO EN CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC 35218 Y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

PRESENTADO POR:

Br. ANA GABRIEL HUMPIRI ARANZÁBAL

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE BIÓLOGO**

ASESORA:

Dra. HELDY YIYI ESPINOZA CARRASCO

COASESORA:

Quim. JERÓNIMA SURCO FUENTES

CUSCO – PERÚ

2025



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor HELDY YIZI ESPINOZA CARRASCO.....
 quien aplica el software de detección de similitud al
 trabajo de investigación/tesis titulada: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE Pleurotus ostreatus Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
IN VITRO EN CEPAS DE Escherichia coli ATCC 35218 Y Staphylococcus aureus
ATCC 25923.....

Presentado por: ANA GABRIEL HUMPIRI ARANZÁBAL..... DNI N° 71415062 ;
 presentado por: DNI N°:
 Para optar el título Profesional/Grado Académico de BIÓLOGO.....

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del *Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC* y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 9 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 15 de ENERO..... de 2026.....



 Firma

Post firma Hedy Y. Y. Espinoza Carrasco

Nro. de DNI 23826797

ORCID del Asesor 0000 - 0002 - 4016 - 8815

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 27259:546441821

Ana Gabriel Humpiri Aranzábal

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Pleurotus ostreatus* Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN V...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:546441821

Fecha de entrega

15 ene 2026, 11:18 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

15 ene 2026, 11:24 a.m. GMT-5

Nombre del archivo

TESIS.pdf

Tamaño del archivo

3.8 MB

119 páginas

20.360 palabras

121.315 caracteres

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 16 palabras)

Fuentes principales

- 8%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 5%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

La presente investigación se la dedico con mucho amor y admiración a mis padres, cada uno de sus sacrificios ha sido un peldaño que me ha permitido llegar hasta aquí, ustedes son y siempre serán mi mayor motivación. Esta tesis es tanto de ustedes como mía; los amo.

A mi querida mamá, Yonilda Aranzábal Carlos, por ser mi pilar, mi confidente, mi mejor amiga y mi mayor inspiración. Esta tesis es el fruto de tu fe inquebrantable y el eco de tus palabras de aliento cuando el camino se hacía difícil. Te dedico este logro como testimonio de tu fortaleza, valentía y amor incondicional; porque en cada página reside la perseverancia que me enseñaste a cultivar. Eres mi mayor inspiración y el motor detrás de este sueño cumplido.

A mi padre, Genaro Luis Humpiri Tisnado, por ser el primer maestro de mi vida y mi guía. Te dedico esta tesis como testimonio de que tu disciplina, tu pasión y tus lecciones de integridad se han arraigado en mi espíritu. Este logro es una muestra de que nunca me rendí, tal como tú me enseñaste.

A mi querido novio Eddie Andre Farfan Zevallos, por ser mi compañero de vida y refugio en la tormenta. Te dedico este trabajo por ser la calma en mis días de incertidumbre y la motivación que impulsó mis pasos, es también un reflejo de tu confianza y de nuestro amor.

A mi segunda mamá Virginia, a mi Tía Adita, y a mis queridos primos que para mí son los hermanos que nunca tuve. A mi pequeño Eiko y a mi tan amado Oddy, por ser mis compañeros fieles.

Se la dedico a todos y cada uno de ellos, que con su existencia me recordaron que la verdadera riqueza no se encuentra en los libros, sino en el amor y la compañía.

Atte. Ana Gabriel Humpiri Aranzábal

AGRADECIMIENTOS

Ante todo, agradezco a Dios por haberme guiado en cada paso de este camino, por darme la fuerza, la sabiduría y por iluminar mi mente durante todo este proceso.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y a la Facultad de Ciencias Biológicas por brindarme los recursos necesarios en mi formación profesional.

A mis padres por su amor incondicional, su apoyo constante y por ser mi mayor inspiración. Este logro es tan suyo como mío.

Agradezco el apoyo inquebrantable de mi amado novio, tus experiencias y consejos sobre este proyecto fueron mi guía fundamental para llegar a la meta.

A la Dra. Hedy Yiyi Espinoza Carrasco y la Qmca. Jerónima Surco Fuentes, su muy amplio conocimiento, su experiencia y correcciones fueron esenciales para dar forma a este trabajo. Gracias por su paciencia y amistad.

A mi querida Shir, por los momentos de risas que me desconectaron del estrés. Gracias por brindarme esa amistad incondicional que inició en el 2017 y acompañarme en toda esta aventura de la Universidad.

ÍNDICE

RESUMEN.....	I
INTRODUCCION	II
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	IV
JUSTIFICACION	VI
OBJETIVOS	VIII
HIPÓTESIS.....	IX
VARIABLES.....	X
CAPITULO I MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes	1
1.1.1 Antecedentes Internacionales:.....	1
1.1.2 Antecedentes Nacionales:	4
1.1.3 Antecedentes Locales:.....	5
1.2 Fundamentos teóricos.....	5
1.2.1 <i>Pleurotus ostreatus</i>	5
1.2.1.1 Descripción botánica.....	5
1.2.1.2 Hábitat y Distribución.....	6
1.2.1.3 Ubicación taxonómica	8
1.2.1.4 Compuestos bioactivos	8
1.2.1.5 Capacidad antioxidante.....	9
1.2.1.6 Usos Nutricionales y Medicinales	9
1.2.2 Componentes químicos (metabolitos secundarios).....	10

1.2.2.1 Quinonas	10
1.2.2.2 Alcaloides.....	10
1.2.2.3 Fenoles	10
1.2.2.4 Flavonoides	11
1.2.2.5 Triterpenos	11
1.2.2.6 Esteroides.....	12
1.2.2.7 Saponinas	12
1.2.2.8 Taninos	13
1.2.2.9 Polisacáridos	13
1.2.3 Actividad antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).....	13
1.2.4 Método de extracción por maceración.....	14
1.2.5 Rotavapor.....	14
1.2.6 Actividad antibacteriana.....	15
1.2.6.1 Actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Pleurotus ostreatus</i>	15
1.2.7 Método de KIRBY - BAUER	16
1.2.8 <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 (Mingula) Castellani and Chalmers.....	17
1.2.8.1 Descripción	17
1.2.8.2 Características de la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.....	17
1.2.8.3 Ubicación taxonómica	18
1.2.8.4 Patogenia.....	18
1.2.9 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 subsp. aureus Rosenbach.....	19

1.2.9.1 Descripción	19
1.2.9.2 Características de cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	19
1.2.9.3 Ubicación taxonómica	19
1.2.9.4 Patogenia.....	20
1.2.10 Descripción del antibiótico	20
1.2.10.1 Características generales de la Fosfomicina	20
1.2.10.2 Mecanismo de acción de la Fosfomicina	21
CAPITULO II MATERIALES Y METODOLOGÍA	22
2.1 Procedencia de la muestra.....	22
2.2 Lugar de ejecución.....	22
2.3 Material biológico.....	22
2.4 Material de laboratorio.....	22
2.4.1 Equipos	22
2.4.2 Material de vidrio.....	23
2.4.3 Medios de cultivo.....	23
2.4.4 Reactivos.....	23
2.4.5 Otros materiales	24
2.4.6 Antibiótico de comparación	24
2.5 Metodología	25
2.5.1 Tipo de investigación	25
2.5.2 Línea de investigación	26

2.5.3 Métodos y fundamentos.....	26
2.5.3.1 Obtención, Manejo y Trituración.....	26
2.5.3.2 Obtención de extracto etanólico - Método de Maceración	26
2.5.3.3 Concentración de Extracto Etanólico.....	26
2.5.3.4 Cálculo del porcentaje de rendimiento	27
2.5.3.5 Marcha química cualitativa.....	27
2.5.3.5.1 Determinación de compuestos fenólicos por Tricloruro de Hierro	28
2.5.3.5.2 Determinación de Flavonoides por reacción de Shinoda	28
2.5.3.5.3 Determinación de Alcaloides por reacción de Dragendorff.....	28
2.5.3.5.4 Determinación de Triterpenos y esteroides por reacción de Liebermann – Burchard.....	28
2.5.3.5.5 Determinación de Saponinas por aparición de Espuma	29
2.5.3.5.6 Determinación de Taninos por reacción de Gelatina-sal	29
2.5.3.6 Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH	29
2.5.3.7 Evaluación de la actividad antibacteriana.....	30
2.5.3.7.1 Activación de las cepas	30
2.5.3.7.2 Preparación del Medio de Cultivo: Agar Mueller – Hinton.....	30
2.5.3.7.3 Diluciones del Extracto para evaluar la actividad antibacteriana ..	30
2.5.3.7.4 Preparación y siembra del Inóculo	31
2.5.3.7.5 Preparación de discos en blanco e inoculación en discos	31
2.5.3.7.6 Control positivo.....	32
2.5.3.7.7 Control negativo.....	32

2.5.3.7.8 Distribución de discos en placas con inóculo bacteriano	32
2.5.3.7.9 Lectura de las placas	34
2.5.3.8 Análisis de datos estadísticos:	34
CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
3.1 Rendimiento de la extracción etanólica al 96% de <i>Pleurotus ostreatus</i>	36
3.2 Marcha fitoquímica cualitativa del extracto etanólico al 96% de <i>Pleurotus ostreatus</i>	36
3.3 Actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de <i>Pleurotus ostreatus</i> ...	40
3.4 Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> generada por el Extracto etanólico al 96% de <i>Pleurotus ostreatus</i> a diferentes concentraciones.....	41
3.4.1 Frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	41
3.4.2 Frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	43
3.5 Análisis de los datos obtenidos por antibiograma.....	44
3.5.1 Media, Mediana, Moda	44
3.5.2 Desviación estándar, Varianza, Rango, Mínimo y Máximo.....	47
3.5.2.1 Sobre la cepa <i>E. coli</i> ATCC 35218.....	47
3.5.2.2 Sobre la cepa <i>S. aureus</i> ATCC 25923	50
3.5.3 Prueba de chi cuadrado	52
3.5.3.1 Sobre la cepa <i>E. coli</i> ATCC 35218.....	52
3.5.3.2 Sobre la cepa <i>S. aureus</i> ATCC 25923	54
CONCLUSIONES	57
SUGERENCIAS	58

BIBLIOGRAFIA.....	59
ANEXOS.....	72

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: <i>Operacionalización de Variables</i>	11
Tabla 2: <i>Distribución de discos por placa inoculados con Escherichia coli y Staphylococcus aureus</i>	33
Tabla 3: <i>Marcha fitoquímica cualitativa del extracto etanólico de Pleurotus ostreatus</i> ...	37
Tabla 4: <i>Antecedentes de otros autores en la marcha química para metabolitos secundarios</i>	38
Tabla 5: <i>Antecedentes de otros autores con el método DPPH</i>	40
Tabla 6: <i>Antibiograma en placas inoculadas con E. coli</i>	41
Tabla 7: <i>Antibiograma en placas inoculadas con S. aureus</i>	43
Tabla 8: <i>Media, mediana y moda del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa E. coli ATCC 35218</i>	45
Tabla 9: <i>Media, mediana y moda del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa Staphylococcus aureus ATCC 25923</i>	46
Tabla 10: <i>Desviación estándar y varianza de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa E. coli ATCC 35218</i>	47
Tabla 11: <i>Mínimo y máximo de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa E. coli ATCC 35218</i>	48
Tabla 12: <i>Rango de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa E. coli ATCC 35218</i>	49
Tabla 13: <i>Desviación estándar y varianza de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa S. aureus ATCC 25923</i>	50

Tabla 14: <i>Mínimo y máximo de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa S. aureus ATCC 25923</i>	50
Tabla 15: <i>Rango de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa S. aureus ATCC 25923</i>	51
Tabla 16: <i>Clasificación y cuantificación de los datos obtenidos por tamaño del halo a las diferentes concentraciones con la cepa E. coli ATCC 35218</i>	52
Tabla 17: <i>Tabla de valores observados para la cepa E. coli ATCC 35218</i>	53
Tabla 18: <i>Tabla de valor porcentual para la cepa E. coli ATCC 35218</i>	53
Tabla 19: <i>Tabla de valores esperados para la cepa E. coli ATCC 35218</i>	53
Tabla 20: <i>Prueba de chi cuadrado para los resultados obtenidos para la cepa E. coli ATCC 35218</i>	54
Tabla 21: <i>Clasificación y cuantificación de los datos obtenidos por tamaño del halo a las diferentes concentraciones con la cepa S. aureus ATCC 25923</i>	54
Tabla 22: <i>Tabla de valores observados para la cepa S. aureus ATCC 25923</i>	55
Tabla 23: <i>Tabla de valor porcentual para la cepa S. aureus ATCC 25923</i>	55
Tabla 24: <i>Tabla de valores esperados para la cepa S. aureus ATCC 25923</i>	56
Tabla 25: <i>Prueba de chi cuadrado para los resultados obtenidos para la cepa S. aureus ATCC 25923</i>	56

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Pleurotus ostreatus</i>	6
Figura 2: <i>Hábitat</i>	7
Figura 3: <i>Partes del Rotavapor</i>	15
Figura 4: <i>Método de KIRBY - BAUER</i>	17
Figura 5: <i>Discos de Fosfomicina 200 µg</i>	20
Figura 6: <i>Flujograma de metodología</i>	25
Figura 7: <i>Representación de la preparación de las concentraciones.</i>	31
Figura 8: <i>Distribución de discos en cada una de las placas</i>	34

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: <i>Boleta de venta y ficha fungivoro de setas frescas de Pleurotus ostreatus</i>	73
Anexo 2: <i>Certificado de la cepa Escherichia coli ATCC 35218</i>	74
Anexo 3: <i>Certificado de la cepa Staphylococcus aureus ATCC 25923</i>	75
Anexo 4: <i>Preparación de caldo BHI (brain heart infusion) para la activación de cepas.</i> 76	
Anexo 5: <i>Preparación de Agar Manitol Salado para siembra de cepa Staphylococcus aureus ATCC 25923</i>	77
Anexo 6: <i>Preparación de Agar MacConkey para siembra de cepa Escherichia coli ATCC 35218</i>	78
Anexo 7: <i>Preparación agar de Mueller Hinton para la replicación de bacterias</i>	79
Anexo 8: <i>Resultados de la marcha fitoquímica del extracto etanólico al 96 % de Pleurotus ostreatus</i>	80
Anexo 9: <i>Resultados del método DPPH para la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96 % de Pleurotus ostreatus</i>	81
Anexo 10: <i>Setas frescas de Pleurotus ostreatus</i>	82
Anexo 11: <i>Setas trituradas de Pleurotus ostreatus</i>	82
Anexo 12: <i>Adición del etanol al 96%</i>	83
Anexo 13: <i>Maceración de Pleurotus ostreatus</i>	83
Anexo 14: <i>Fotografía del extracto etanólico luego de ser filtrado y antes de iniciar el proceso de separación del etanol con la ayuda del rotavapor.</i>	84
Anexo 15: <i>Proceso de separación del etanol con la ayuda del rotavapor</i>	84
Anexo 16: <i>Asesoramiento sobre el uso del Rotavapor</i>	85

Anexo 17: Finalización del proceso en el rotavapor	85
Anexo 18: Obtención del extracto etanólico	86
Anexo 19: Ultimas calibraciones e indicaciones sobre el rotavapor	86
Anexo 20: Reacciones a la gota para la marcha fitoquímica.....	86
Anexo 21: Pesaje del agar MacConkey.....	87
Anexo 22: Calentando el agar MacConkey para facilitar su disolución	87
Anexo 23: Material para autoclavado.....	87
Anexo 24: Cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en el Caldo BHI.....	88
Anexo 25: Proceso de siembra de las Cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	88
Anexo 26: Plaqueo de las placas con Agar Mueller Hinton	88
Anexo 27: Placas de Agar Muller Hinton	89
Anexo 28: Ajustando las suspensiones A y B a la escala MacFarland de 0.5	89
Anexo 29: Preparación de las concentraciones de 1000,500 y 250mg/mL del extracto etanólico.....	89
Anexo 30: Diluciones a concentraciones de 1000,500 y 250 mg/mL del extracto etanólico	90
Anexo 31: Discos impregnados con las diluciones del extracto etanólico al 96% de <i>Pleurotus ostreatus</i> a concentraciones de 1000,500 y 250 mg/mL.....	90
Anexo 32: Alistando materiales esterilizados.....	90
Anexo 33: Siembra del el inoculo bacteriano en las placas de Muller Hinton	91

<i>Anexo 34: Placas con los discos a diferentes concentraciones, fase experimental de la prueba de Kirby Bauer</i>	91
<i>Anexo 35: Incubación de placas a 35 °C</i>	91
<i>Anexo 36: Resultado de la prueba de Kirby Bauer</i>	92
<i>Anexo 37: Resultados de la prueba de Kirby Bauer para Escherichia coli y Staphylococcus aureus</i>	92

ABREVIATURAS

Abs: Absorbancia

ABTS: ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

ATCC: Colección Americana de Cultivos Tipo

CAMP: Prueba de Christie-Atkins-Munch-Petersen

CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

FFS: Espectroscopia de fluctuación de fluorescencia

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

SARM: *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina

TEAC: Actividad antioxidante en equivalentes a Trolox

TLC: Cromatografía en capa fina

RESUMEN

Esta investigación, de tipo experimental con enfoque mixto, tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* y su actividad antibacteriana *in vitro* en cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Para la obtención del extracto, los carpóforos fueron sometidos a maceración en etanol al 96%; posteriormente, los compuestos activos se concentraron mediante rotavapor. El tamizaje fitoquímico cualitativo reveló la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, esteroides y triterpenos. La actividad antioxidante se evaluó mediante el método de inhibición del radical libre DPPH (α,α -difeníl- β -picrilhidrazilo), obteniendo un porcentaje de captación del 38,3%. Por otro lado, la evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* se realizó en las cepas *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mediante el método de disco difusión, donde los resultados demostraron que el extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* genera halos de inhibición para ambas cepas a concentraciones de 1000, 500 y 250mg/mL. Obteniendo el mayor halo de inhibición en las concentraciones de 1000 mg/mL, para *Escherichia coli* fue de 10,4mm y 10,3mm para *Staphylococcus aureus*. Se concluye que *P. ostreatus* representa una fuente potencial de compuestos bioactivos con propiedades terapéuticas frente a patógenos de importancia clínica.

Palabras clave:

Pleurotus ostreatus, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Actividad antibacteriana

INTRODUCCION

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) representa una de las mayores amenazas para la salud pública global. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2025), entre 2018 y 2023 la resistencia aumentó en más del 40% en las combinaciones patógeno-antibiótico monitoreadas. Esta situación se agrava ante la falta de nuevos productos de vanguardia, como señala la Dra. Yukiko Nakatani, dejando un vacío terapéutico frente a patógenos críticos.

En este escenario, bacterias Gram-negativas como *Escherichia coli*, comensal común del intestino grueso, han mostrado un aumento progresivo en su resistencia a la ampicilina, tetraciclina y fluoroquinolonas (Bush & Vazquez-Pertejo, 2022). Asimismo, *Staphylococcus aureus* destaca como un patógeno de alto riesgo capaz de causar desde infecciones cutáneas hasta neumonías graves; particularmente, las cepas resistentes a la meticilina (SARM) complican el panorama al ser refractarias a casi todos los antibióticos beta-lactámicos (Bush, 2023).

Ante esta carencia de nuevos fármacos, el estudio de extractos etanólicos vegetales y fúngicos ha permitido identificar constituyentes capaces de enfrentar a estas bacterias multirresistentes (Salgado et al., 2015). En este contexto, la micoterapia ha cobrado relevancia en Occidente, rescatando el uso milenario que la Medicina Tradicional China ha dado a los hongos (Medsir, 2021). Más allá de su valor culinario, los hongos silvestres poseen un alto potencial antioxidante que ayuda a manejar afecciones provocadas por el estrés oxidativo (Flores, 2021).

Dentro de este reino, el género *Pleurotus* ha acelerado su investigación en la última década, siendo *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* las especies más cultivadas a nivel mundial por su adaptabilidad a diversos climas (Villalba et al., 2021). *Pleurotus ostreatus*, conocida comúnmente como seta ostra o gírgola, es un hongo saprófito de gran interés científico debido a su riqueza en sustancias bioactivas como flavonoides y alcaloides (Yakobi, 2023).

Estudios previos han reportado que el extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* posee actividad antibacteriana efectiva contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mostrando una mayor sensibilidad en esta última (Flores, 2017).

Debido a la necesidad de encontrar alternativas terapéuticas naturales y eficaces, la presente investigación determinó la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* y su actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso convencional de antibióticos para el tratamiento de enfermedades bacterianas enfrenta hoy un desafío dual: por un lado, las reacciones adversas que estos fármacos generan en el organismo y, por otro, la alarmante aparición de patógenos con mecanismos de resistencia inéditos (Farfan & Tapia, 2023). La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2023) advierte que la rápida propagación de cepas multirresistentes y panresistentes a nivel mundial es particularmente preocupante, ya que estas no responden a los antimicrobianos habituales, limitando drásticamente las opciones terapéuticas.

Esta problemática se traduce en elevadas tasas de morbilidad y mortalidad, afectando con mayor severidad a naciones de ingresos bajos que carecen de recursos para costear tratamientos de última generación. En este escenario, *Staphylococcus aureus* representa una carga crítica para los sistemas de salud debido a su persistencia en entornos hospitalarios (OMS, 2024). Paralelamente, bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* complican el panorama al poseer capacidades innatas para transferir material genético de resistencia a otras especies, hallando constantemente formas innovadoras de evadir los fármacos (OMS, 2024).

Recientemente, tanto *S. aureus* como *E. coli* han manifestado una resistencia creciente a múltiples generaciones de antibióticos tradicionales, exponiendo a la población a un peligro sanitario sin precedentes (OMS, 2021). *Escherichia coli* es uno de los microorganismos de mayor interés investigativo por su dualidad como comensal intestinal y patógeno facultativo capaz de causar infecciones urinarias y respiratorias graves (ATCC, 2020; CDC, 2022). Por su parte, *Staphylococcus aureus* es el modelo por excelencia para estudiar la sensibilidad en Gram positivos, siendo responsable de diversas infecciones cutáneas y sistémicas (ATCC, 2013; CDC, 2022).

A pesar de la urgencia, en el Perú existe un vacío crítico de evidencia científica: no se registran precedentes que evalúen la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Aunque la obtención de este hongo es altamente factible en el territorio nacional, su potencial terapéutico permanece subutilizado. La falta de difusión científica sobre sus propiedades antioxidantes y antibacterianas limita su aprovechamiento en suplementos nutricionales o alternativas fitoterapéuticas (Jessica I. et al., 2020).

Resolver este problema es vital, de no investigarse nuevas fuentes de compuestos bioactivos, como los polifenoles y polisacáridos presentes en *P. ostreatus*, la medicina continuará perdiendo terreno frente al estrés oxidativo y la multirresistencia bacteriana. La validación de este hongo no solo ofrecería una alternativa natural para contrarrestar el daño celular, sino que sentaría las bases para desarrollar nuevos agentes antimicrobianos de bajo costo y alta disponibilidad.

Por lo expuesto, se formula la siguiente problemática:

¿El extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* tendrá actividad antioxidante y actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

JUSTIFICACION

En la actualidad, el mercado global de nutraceuticos experimenta un crecimiento exponencial, con una valoración estimada de 488,41 mil millones de dólares en 2024 y una proyección de 626,02 mil millones para el año 2029. Este incremento responde a una creciente conciencia social sobre los beneficios médicos de los productos naturales, lo que hace imperativo profundizar en la investigación científica de compuestos que satisfagan esta demanda (Mordor Intelligence, 2024).

Dentro de este contexto, los hongos del filo Basidiomycota destacan como una fuente excepcional de metabolitos secundarios con propiedades farmacológicas comprobadas. Específicamente, *Pleurotus ostreatus* emerge como una opción terapéutica prometedora para el tratamiento de infecciones bacterianas multirresistentes (Lara et al., 2019). Su composición, rica en antioxidantes, es vital para la prevención del daño celular provocado por el estrés oxidativo, actuando como un mecanismo de protección indispensable para el organismo (Belloso et al., 2015).

La presencia de compuestos bioactivos como alcaloides y flavonoides en el extracto de *P. ostreatus* no solo potencia su capacidad antioxidante, sino que sustenta su eficacia antibacteriana (Lara et al., 2019). Debido a su naturaleza económica y saludable, estos extractos poseen un alto potencial para ser integrados en el régimen alimenticio diario como suplementos, mejorando integralmente el estado nutricional y sistémico del individuo (Juárez et al., 2019). Además, la evidencia científica atribuye a las especies de *Pleurotus* propiedades antitumorales, antivirales, antiinflamatorias, inmunomoduladoras e hipocolesterolémicas, consolidándolas como pilares de la medicina complementaria moderna (Lara et al., 2019).

La justificación clínica de este estudio se fundamenta en la crisis de resistencia antimicrobiana. *Escherichia coli* es reconocida mundialmente como un problema de salud

pública de primer orden debido a su capacidad de evadir tratamientos convencionales (Piña & Hinostroza, 2021). Por otro lado, *Staphylococcus aureus* ha sido catalogado por la Organización Mundial de la Salud como un patógeno de "prioridad alta" debido a su resistencia a la meticilina (SARM), lo que limita severamente las opciones de tratamiento en centros hospitalarios (OMS, 2024).

Desde una perspectiva aplicada, la validación de las propiedades de *Pleurotus ostreatus* ofrece beneficios prácticos inmediatos para el sector biotecnológico y de salud preventiva. La caracterización de su extracto etanólico permite sentar las bases para el desarrollo de fitofármacos de bajo costo y suplementos dietéticos estandarizados, facilitando su transición de un alimento convencional a un insumo industrial con valor agregado. Asimismo, en el ámbito de la salud comunitaria, este estudio proporciona una base científica que respalda el uso de recursos micológicos accesibles como coadyuvantes en el control de enfermedades infecciosas y degenerativas. Esto no solo promueve la soberanía sanitaria al reducir la dependencia de fármacos importados, sino que también incentiva la economía circular y el cultivo sostenible.

Esta investigación es relevante porque busca cerrar la brecha entre el conocimiento tradicional y la validación científica. Al determinar el potencial de *Pleurotus ostreatus* como agente nutracéutico y antibacteriano, se contribuye al desarrollo de alternativas naturales y prácticas que sean económicamente accesibles y presenten menores efectos adversos que los antibióticos de síntesis química.

Por las razones expuestas, el presente trabajo se centró en determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* y su actividad antibacteriana *in vitro* frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* y su actividad antibacteriana *in vitro* en cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Objetivos específicos

1. Determinar el porcentaje de rendimiento de la extracción etanólica de *Pleurotus ostreatus*.
2. Determinar la marcha fitoquímica cualitativa de la extracción etanólica de *Pleurotus ostreatus*.
3. Determinar la actividad antioxidante de la extracción etanólica de *Pleurotus ostreatus* por el método de DPPH.
4. Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* a diferentes concentraciones frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 35218.
5. Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* a diferentes concentraciones frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

HIPÓTESIS

El extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* presenta actividad antioxidante. Así mismo, inhibe el crecimiento de la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE

Concentraciones del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus*.

VARIABLE DEPENDIENTE

Marcha fitoquímica

Actividad antioxidante

Actividad antibacteriana

Tabla 1

Operacionalización de Variables

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES
Concentraciones del extracto etanólico de <i>Pleurotus ostreatus</i>.	Independiente	Sustancia obtenida de <i>Pleurotus ostreatus</i> utilizando etanol como disolvente al 96%	1000 mg/mL (100%) 500 mg/mL (50 %) 250 mg/mL (20 %)	Concentración
Marcha fitoquímica	Dependiente	Procedimiento de análisis que identifica: Compuestos fenólicos, Flavonoides, Alcaloides, Triterpenos y Esteroides, Saponinas, Taninos	+++ ++ + -	Abundante Poco Muy poco Ausente
Actividad antioxidante	Dependiente	Es la capacidad de los antioxidantes para donar electrones o hidrógenos a los radicales libres.	0 - 100%	Potencia antioxidante (cambio de color es proporcional a la capacidad antioxidante)
			Halos de inhibición en (mm) >20	Escala de Duraffourd: Altamente sensible (AS)
Actividad antibacteriana	Dependiente	Acción que presentará el extracto etanólico al 96% frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	15-20 8-14 <8	Muy sensible (MS) Sensible (S) Resistente (R)

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

1.1.1 Antecedentes Internacionales:

Beltrán et al., (2024) en su investigación realizada en Cuba, evaluaron la actividad antioxidante y antimicrobiana del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café, mediante la metodología del secuestro del radical DPPH, y por el método de difusión en disco, respectivamente para cada prueba. Donde obtuvieron como resultados que la captación del radical DPPH de 18,94 %. Para la actividad antimicrobiana no mostró un efecto significativo sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, pero sí contra las cepas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus*, con zonas de inhibición de $7,21\text{ mm} \pm 1,06$ y $7,24\text{ mm} \pm 0,35$, respectivamente.

Sutthisa y Anujakkawan (2023) realizaron su estudio en Tailandia e investigaron las propiedades antibacterianas de los extractos (etanol al 95% y acetato de etilo al 95%) de *Pleurotus ostreatus* contra varias bacterias patógenas, incluidas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. La efectividad de los extractos la midieron mediante la técnica de difusión de disco de papel. Así sus resultados revelaron que el extracto crudo obtenido de etanol al 95% mostró efectos inhibitorios significativos contra *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *S. typhi* y *S. aureus*, produciendo diámetros de zona de inhibición de 9,22 a 12,33mm. Por otro lado, el extracto crudo de acetato de etilo al 95% mostró actividad inhibitoria solo contra *E. coli*, mostrando un diámetro de zona de inhibición de 12,00 mm.

García et al. (2022) desarrollaron una investigación en Cuba con el objetivo de evaluar las propiedades antioxidantes de *Pleurotus ostreatus* y determinar el impacto de los tratamientos térmicos sobre estas. Mediante una revisión bibliográfica exhaustiva, los autores concluyeron que, si bien la seta posee una capacidad antioxidante sobresaliente, esta disminuye significativamente al ser sometida a altas temperaturas. Asimismo, identificaron que dicha

actividad está sustentada por la presencia de metabolitos secundarios clave, tales como compuestos fenólicos, flavonoides, aminoácidos, esteroides y tocoferoles.

Flores (2021) realizó su investigación en Ecuador, donde evaluó la actividad antioxidante de dos tipos de extractos (etanólico al 96% y acuoso) de *Pleurotus ostreatus*, en una relación de 7 : 1 mediante la metodología de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), utilizando de estándar de comparación el ácido ascórbico puro a diferentes concentraciones. Luego realizó el tamizaje fitoquímico donde identificó la existencia de alcaloides, hidratos de carbono, fenoles, azúcares reductores, y flavonoides. Donde obtuvo que el extracto etanólico presentó 47,264 % de porcentaje de inhibición, mientras que el extracto acuoso fue 86,461 % de porcentaje de inhibición. Concluyó que el extracto acuoso manifestaba mayor actividad antioxidante frente al extracto etanólico al 96%, debido a que poseía un contenido de compuestos fenólicos significativos que representaban el 31,303 mg/L que va íntimamente relacionado con la capacidad antioxidante.

Flores (2017) evaluó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus* contra cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, en una investigación realizada en Ecuador. El extracto se preparó mediante maceración y se utilizó en concentraciones del 30%, 70% y 100%. Para la evaluación se empleó el método de difusión, utilizando como controles positivos Amikacina (30 µg) y Ampicilina (10 µg). El trabajo se desarrolló bajo el estándar de 0,5 McFarland, incubándose las placas a 35 °C durante aproximadamente 24 horas. La capacidad antimicrobiana se determinó mediante la medición de los halos de inhibición. Los resultados mostraron que el extracto al 100% presentó el mayor halo de inhibición, y *Staphylococcus aureus* mostró un halo más amplio (10 mm) que *Escherichia coli*.

Lara et al. (2017) realizaron su estudio en México y midieron la capacidad antibacteriana en diferentes extractos en función de una técnica de secado, seguidamente un proceso de macerado con la ayuda de la utilización de múltiples solventes: metano (M), cloroformo (C) y H₂O (A); que fueron mezclados en diversas preparaciones 1(C): 1(M): 3(A) que fue el primero; 1(A): 2(C): 2(M) fue el segundo; y A que fue el tercer extracto. Donde el estudio micoquímico reflejó la existencia de: alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, quinonas y saponinas en función del extracto acuoso; en cambio con respecto al extracto 1 mostró: alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, flavonoides y quinonas; para finalizar con respecto al extracto sobrante sólo se manifestó la presencia de alcaloides. La actividad ante las bacterias la evaluaron con la ayuda del método de difusión en placa resultando halos de inhibición menores a un centímetro de diámetro.

Castillo (2015) en su estudio realizado en México, evaluó la capacidad de inhibición de *Pleurotus ostreatus* sobre *Staphylococcus aureus*, usando cajas petri con medios de cultivo Müller Hinton, al cual agregó extractos elaborados con acetona al 80 % y éter de petróleo al 100 %. Midió el efecto inhibidor por medio de halos de inhibición a través de sensi discos, encontrando que no hay halos de inhibiciones significativas (0cm).

Anguiano (2009) en Madrid evaluó la actividad antioxidante con tres tipos de extractos (acuoso, metanólico, etéreo) de hongos adquiridos de un supermercado local, mediante los siguientes métodos: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), ABTS (Ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), TEAC (actividad antioxidante en equivalentes de trolox), técnica de inhibición de la formación de hidroperóxidos lipídicos, y procedimiento del blanqueamiento del β -caroteno; obteniendo como resultado que el extracto metanólico presentó una captación del radical DPPH de 82,5%. También midió la potencia de la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, donde manifestó halos de inhibición de 9,2mm y 9,1mm respectivamente.

Valencia del Toro et al., (2008) realizaron un estudio en México para evaluar la actividad antibacteriana de extractos hexánicos contra diversas bacterias, entre ellas *Staphylococcus aureus*, empleando la técnica de difusión en agar por disco de Kirby-Bauer. Como control negativo se utilizaron discos embebidos únicamente con hexano, mientras que como control positivo se emplearon discos comerciales con 30 µg de cloranfenicol. Las placas se incubaron a 35 °C durante 16 a 19 horas. En el caso de *Pleurotus ostreatus*, se reportaron halos de inhibición para *S. aureus* de 7,0 a 7,5 mm. Aunque no se detectaron flavonoides en el extracto, sí se observaron la presencia de azúcares y terpenoides.

1.1.2 Antecedentes Nacionales:

Monzón (2023) en su estudio realizado en Apurímac midió la capacidad antioxidante de *Pleurotus ostreatus* a partir de extractos metanólicos al 80 %, donde pesó 0,75 g de cada muestra fermenta: 10, 20, 30, 40, 50, 60 días, para luego añadir 45 ml de alcohol metílico al 80%, dejándolos dormir en el curso de 20 horas a 4 ° C; para luego centrifugarlos a 4000 r p m por 15 minutos y ser filtrados. Obtuvo como resultados que la espectroscopia de fluctuación de fluorescencia (FFS) mostró mayor contenido de proteínas cerca a los dos meses con un acrecentamiento significativo en 32,56 % más que el control, el contenido de carbohidratos totales experimentó un decremento de 60,3 g / 100g a 38,2 g / 100 g y la capacidad antioxidante cerca a los dos meses de incubación fue de 1465,5 µMolTE / 100 g (superior en 39,96 %) con respecto a la quinua pura (QP).

Vásquez (2010) realizó su estudio en Tingo María mediante la cuantificación de polifenoles totales en muestras de *Pleurotus ostreatus* con el reactivo de Folin – Ciocal teau, y mensuró la actividad antioxidante mediante DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Obteniendo como resultados en la composición físico - químico proximal las siguientes: humedad 90,7 %, proteína 0,40 %, grasa 0,02 %, fibra 0,16 %, hidratos de carbono 8,64 % y vitamina " C " 0,947 mg /100 g. Encontró que el hongo deshidratado a 65 °C tenía el mayor contenido de polifenoles

y el mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH fue $92,73 \pm 0,29$ %. Así concluyó que se debe secarse a 65 °C para así mantener la actividad antioxidante.

1.1.3 Antecedentes Locales:

Rivero et al. (2024) realizaron el tamizaje fitoquímico de setas comestibles medicinales oriundos de la Región Cusco. El análisis fito - químico cualitativo lo realizaron con ayuda de la técnica de cromatografía en capa fina (TLC) y la evaluación de aminoácidos totales e hidratos de carbono la efectuaron por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD RID, detección de índice de refracción). Finalmente obtuvieron como producto que simultáneamente las dos especies contenían alcaloides y triterpenos esteroides; de los 17 aminoácidos que evaluaron, todos se manifestaban en las especies de su estudio, perteneciendo 8 de ellos a los aminoácidos esenciales.

1.2 Fundamentos teóricos

1.2.1 *Pleurotus ostreatus*

1.2.1.1 Descripción botánica

Paul Kummer definió *Pleurotus* en 1871, y lo clasificó dentro del orden de los Agaricales y lo catalogó como filum de setas Basidiomycota (Knop et al., 2014). Es un hongo con tamaño variable de su sombrero que progresa de liso a convexo a plano convexo y tiene un aspecto de ostra. Llega a tener un diámetro de 5 a 15 cm. Su tono es muy variado y puede ir desde un gris oscuro o un tono siena a un gris plateado, verde azul e inclusive un tono castaño. Con la madurez, las laminillas son decurrentes, apretadas y desiguales (SIB, s. f.)

Las orillas se presentan enroscadas en los individuos jóvenes, quedando después refinado y un poco ondulado. Su cutícula es homogénea, radiante y separable, especialmente durante el tiempo de lluvias es cuando se vuelve por poco lubricada. Tiene un pie enano y completamente lateral; en algunos especímenes es pobremente perceptible porque está

embutido en el sustrato. Su color es similar al de las láminas. Carne blanca consistente y dura, con un suave olor fúngico y un sabor dulce y agradable (Pérez, 2017).

Figura 1

Pleurotus ostreatus



Nota. Gírgola, Hongo Ostra (SIB, s. f.)

1.2.1.2 Hábitat y Distribución

Es una especie que se encuentra con frecuencia en los bosques y produce frutos gregarios e incluso cespitosos sobre los árboles que han caído por un largo tiempo. Existe una especie que produce frutos en los tocones de chopos u olmos, mientras que otra que se encuentra en las coníferas es poco común (Pérez, 2017). Suele ser degradadora mientras destruye la madera y causa su pudrición blanca. Especie de amplia distribución mundial (Flores, 2021).

Según Tome (2022) mencionó que *Pleurotus ostreatus* es cultivado en distintos tipos de sustratos, por ejemplo, en Maranura – Cusco y Chanchamayo - Junín es cultivado en coronta de maíz, rastrojo de chala y en afrecho de trigo.

Figura 2

Hábitat



Nota. Setas ostra sobre un árbol. (Naturalist Mexico, s. f.)

Reemplazado normalmente por *P. pulmonarius* y *P. populinus* en el Noroeste del Pacífico de América del Norte, en cambio en múltiples arboledas templadas y subtropicales de todo el planeta suele ser muy común. Es un saprótrofo que descompone la madera principalmente, en particular de las hojas percederas de muchos árboles. Se sospecha que es una manera que utilizan para que puedan obtener nitrógeno ya que es una de las escasas setas carnívoras conocidas (en vista de que sus micelios son capaces de victimar y digerir gusanos redondos) (Naturalist Mexico, s. f.).

1.2.1.3 Ubicación taxonómica

Reino: Fungi

Filum: Basidiomycota

Clase: Homobasidiomycetes

Orden: Agaricales

Familia: Pleurotaceae

Género: Pleurotus

Especie: *Pleurotus ostreatus*

Nombres comunes: Hongo ostra, Champiñón ostra, Gírgola, Orellana, Seta de chopo o simplemente (Sánchez et al., 2001, p. 73).

1.2.1.4 Compuestos bioactivos

Las setas presentan altas cantidades de proteínas, carbohidratos, antioxidantes (compuestos fenólicos, tocoferol y ácido ascórbico), vitaminas (tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, calciferol) y minerales (calcio, fósforo, hierro). Aunque tienen un contenido escaso de lípidos, también son una gran fuente de ácidos grasos (principalmente oleico y linoleico) (Duarte et al., 2018).

Los carbohidratos del hongo consisten principalmente en polisacáridos y glicoproteínas; los preponderantes son la quitina, la hemicelulosa, los α -glucanos y los β -glucanos, que funcionan como fibra dietética al ser componentes de la capa exterior de la seta (Khan & Tania, 2012).

De la biomasa fúngica se han extraído diversas sustancias, entre ellas lectinas, carbohidratos complejos formados por más de 10 monosacáridos (polisacáridos), péptidos, complejos polisacárido-proteína, terpenoides, policétidos y ácidos grasos (Duarte et al., 2018).

P. ostreatus es considerado un alimento funcional debido a las propiedades que posee gracias a sus compuestos bioactivos como polisacáridos, terpenoides, fenólicos, lectinas; se le atribuye más de 126 efectos terapéuticos (Reyes, 2025).

1.2.1.5 Capacidad antioxidante

Los antioxidantes naturales están ganando cada vez más atención como un potente antídoto contra los radicales libres, que alteran el sistema del cuerpo el cual posee defensas no enzimáticas como vitaminas (A, C y E), carotenoides, fenoles, flavonoides naturales y otros compuestos antioxidantes (Effiong et al., 2024). *Pleurotus ostreatus* se consume ampliamente por sus beneficios terapéuticos y se ha informado que contienen niveles significativos de minerales, además de compuestos bioactivos con efectos antioxidantes (González et al., 2021).

1.2.1.6 Usos Nutricionales y Medicinales

Las situaciones pre y post-cosecha al igual que la calidad de desarrollo son factores que llegan a afectar el contenido nutricional de las setas ostras, que son valoradas por su delicioso sabor y alto contenido nutricional. Contienen todos los aminoácidos necesarios para el organismo del ser humano y tienen un contenido de proteína cruda superior al de la mayoría de los alimentos vegetales, lo que los convierte en una gran opción para suplir la carne en una alimentación vegetariana (Duarte et al., 2018).

Debido a su composición nutricional y a la presencia de algunos ingredientes activos, tienen actividades anticancerígenas, antihipercolesterolémicas, antihipertensivas, antidiabéticas, antiobesidad, hepatoprotectoras, antienvjecimiento, antimicrobianas,

antialérgicas y antioxidantes. El alto valor nutricional y los usos medicinales sugieren que los hongos *Pleurotus* son alimentos funcionales o nutraceuticos importantes (Khan & Tania, 2012).

1.2.2 Componentes químicos (metabolitos secundarios)

1.2.2.1 Quinonas

A excepción de los animales superiores y los protistas, están presentes en todos los organismos vivos. Son usados en la industria como colorantes y cosméticos naturales porque intervienen en la función clorofílica y la respiración celular. Son utilizados en la ciencia de la salud como antimicrobianos, antioxidantes, antitumorales, anticancerígenos y antiinflamatorios para tratar enfermedades cardiovasculares (Sanchez & Figueroa, 2022).

En los hongos las quinonas son precursoras de pigmentos y pueden actuar como defensa ya que cuando es atacado se pueden oxidar para crear una barrera química (Lara et al., 2017).

1.2.2.2 Alcaloides

En pequeñas cantidades, estos compuestos nitrogenados principalmente heterocíclicos con actividad biológica potente pueden ser tóxicos para los organismos vegetales. El metabolismo de los aminoácidos se basa en estos elementos (Sanchez & Figueroa, 2022).

Al ser compuestos ricos en nitrógeno funcionan como una forma de almacenamiento de este, y podría ayudarlo a sobrevivir en sustratos difíciles (Lara et al., 2017).

1.2.2.3 Fenoles

Entre los metabolitos secundarios son valiosos y significativos durante el crecimiento y procreación de las plantas, y se portan como defensa frente a patógenos; de la misma manera tienen propiedades antimicrobianas, antioxidantes y anticancerígenos (Sanchez & Figueroa, 2022).

Son considerados como metabolitos secundarios muy importantes debido a que actúan en el crecimiento y protección de los hongos, y están relacionados con la calidad sensorial de los hongos (Reyes, 2025).

1.2.2.4 Flavonoides

Son pigmentos naturales producidos por la fenilalanina, que son los causantes del color de los frutos, las flores y las hojas otoñales. Tiene propiedades antiespasmódicas, diuréticas, antiinflamatorias, antiulcerosas, hepatotóxicas, anticancerígenas, antialérgicas, antitrombóticas, antivirales, antibióticas y antifúngicas (Sanchez & Figueroa, 2022).

Estos compuestos en el hongo ayudan a neutralizar los radicales libres, y ayudan en su proceso de maduración y desarrollo del cuerpo fructífero (Reyes, 2025).

1.2.2.5 Triterpenos

Los terpenos son moléculas caracterizados por presentar una estructura simple, además de presentar la familia más numerosa de compuestos, que dependiendo del número de carbonos se clasifica en diferentes compuestos, como los triterpenos que presentan treinta átomos de carbono, con origen en 6 unidades isoprénicas y 3 unidades terpénicas. El terpenoide precursor se denomina difosfato de isopentenilo o pirofosfato de isopentenilo (IPP) (Sanchez & Figueroa, 2022).

Poseen funciones relacionadas con el crecimiento, desarrollo, propiedades antimicrobianas y resistencia al medio externo. Constituyen la fuente de olores intensos en las plantas leñosas (Farfan & Tapia, 2023). Dependen de las condiciones en las cuales el hongo se encuentre, el cultivo y son producidos a partir de metabolitos primarios; estos compuestos no son necesarios en el funcionamiento intracelular, pero si en interacción entre organismos y ambiente (Flores, 2017).

1.2.2.6 Esteroides

Son derivados del triterpenoide lanosterol, presentan una estructura básica compuesta por cuatro anillos de ciclopentano perhidrofenantreno, encontrándose en plantas y animales (Sanchez & Figueroa, 2022).

Son componentes de vitaminas y hormonas con funciones, reguladoras, estructurales y hormonales actuando a nivel hepático, muscular, capilar, entre otros (Farfan E. & Tapia V. 2023).

El ergosterol es el principal esteroide en los hongos comestibles, su concentración puede variar entre la especie del hongo y su estado de madurez; éste es considerado como precursor de la Vitamina D2 y como principal componente de las membranas celulares del hongo (Reyes, 2025).

1.2.2.7 Saponinas

Las saponinas son glucósidos esteroides o triterpenoides con propiedades formadoras de jabón; las moléculas típicas están compuestas por unidades isoprenoides (agliconas) y residuos de azúcar (gliconas). Sus actividades biológicas de estas se deben a su estructura única, y están relacionadas con la actividad anticancerígena, frenar el ciclo celular, proporcionar propiedades antioxidantes, la inhibición de la invasión celular, la inducción de la apoptosis y autofagia (Elekofehinti et al., 2021).

Son un grupo de glucósidos que se usan en fitoterapia, en la industria de cosméticos y en la medicina popular (Farfan & Tapia, 2023). Ayudan al hongo a defenderse de bacterias y otros competidores de sustrato (Lara et al., 2017).

Tienen una característica especial al entrar en contacto con la sangre ya que al entrar en contacto con el colesterol logran hemolizar la muestra por ello es tóxico una administración por vía sanguínea, si es consumido por vía oral en altas concentraciones pueden producir

irritaciones de la mucosa provocando diarrea, vómitos y dolor abdominal; a nivel renal produce efecto diurético, a nivel pulmonar produce un efecto expectorante (Sanchez & Figueroa, 2022).

1.2.2.8 Taninos

Los taninos y las ligninas, constituyen los principales grupos de compuestos fitoquímicos que las plantas utilizan para la defensa. La estructura química que presentan los taninos le confiere propiedades de importancia como la actividad antimicrobiana contra bacterias, hongos, levaduras, y antiviral (Sanchez & Figueroa, 2022).

Usado hace tiempo atrás para la obtención de cuero por reacción con las proteínas presentes en las pieles de animales. Entre los alimentos con alto contenido de taninos se tiene al café, chocolate o té y no es recomendable su consumo en personas con anemia por deficiencia de hierro porque interfiere en la absorción de metales, así como también puede producir estreñimiento (Farfan & Tapia, 2023).

1.2.2.9 Polisacáridos

Son cadenas de monosacáridos que pueden cumplir funciones de reserva energética como ocurre con el almidón, estructurales como la celulosa y de protección como sucede en el caso de la quitina (Sanchez & Figueroa, 2022).

Su detección diferencial se puede llevar a cabo mediante la prueba de iodo-lugol (Farfan & Tapia, 2023). Estos se encuentran muy externamente de la pared celular, además son muy abundantes y son polímeros de carbohidratos, su composición incluye complejos que se encuentran en macrohongos (Flores, 2017).

1.2.3 Actividad antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

El método de eliminación de radicales libres α,α -difenil- β -picrilhidrazilo (DPPH) fue desarrollado por Brand-Willams y ofrece la primera aproximación para evaluar el potencial antioxidante de un compuesto, un extracto u otras fuentes biológicas. Este es el método más

sencillo, en el que el compuesto o extracto en cuestión se mezcla con una solución de DPPH y se registra la absorbancia tras un periodo definido (Kedare & Singh, 2011).

1.2.4 Método de extracción por maceración

Este método se basa en sumergir los elementos vegetales en un recipiente hermético con un disolvente y dejar que reposen a temperatura ambiente en el transcurso de un tiempo predeterminado y, recomendablemente sacudirlos con frecuencia (Piñero, Sifaoui & López, 2015).

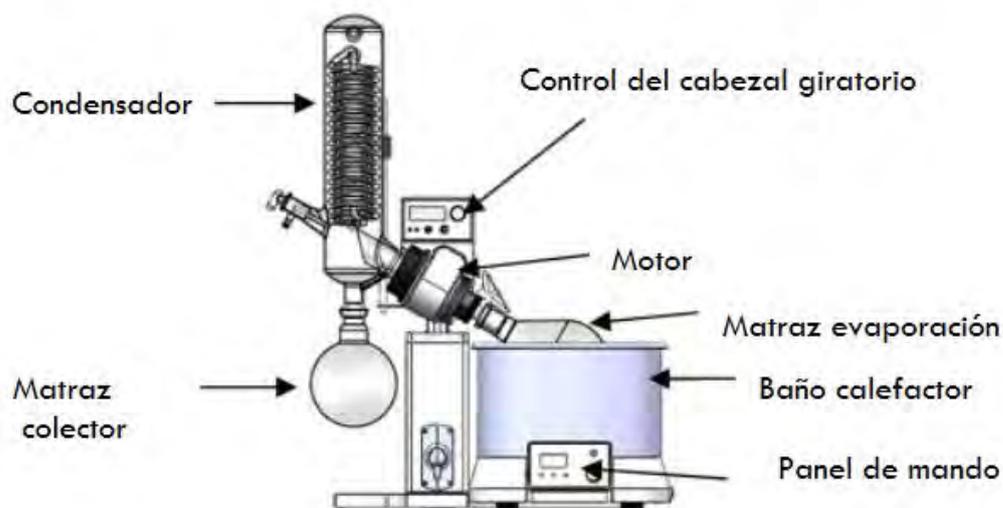
1.2.5 Rotavapor

El rotavapor es un equipo que sirve para evaporar sustancias mediante destilación para luego volver a condensarlas, esto con el fin de separar los componentes básicos entre sí sin dañarlos por procesos de presión reducida. Este sistema se encuentra vinculado a una bomba de vacío el cual genera una presión negativa, lo que reduce considerablemente el punto de ebullición del disolvente. El matraz de base cilíndrica en cada giro distribuye de manera uniforme la temperatura emitida por el baño maría (Trevenqueadmin, 2022).

Cuando se finaliza el proceso en el rotavapor, el matraz de evaporación contiene solamente el sólido que se encuentra pegado a la pared y el disolvente queda recogido en el matraz colector y puede ser reutilizado o eliminado (Farfan & Tapia, 2023).

Figura 3

Partes del Rotavapor



Nota. Rotavapor (Farfan & Tapia, 2023).

1.2.6 Actividad antibacteriana

Es la capacidad de una sustancia para inhibir el desarrollo y crecimiento de una bacteria. Se distingue del efecto bacteriostático ya que este es transitorio o puede revertirse debido a sus múltiples mecanismos enzimáticos (Ayala, 2019).

1.2.6.1 Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus*

La actividad contra muchos microorganismos que tiene el hongo *Pleurotus ostreatus* se ha desarrollado por la sobrevivencia que tienen de unos a otros y en este caso a bacterias. En otras palabras, este hongo por otra parte de ser comestible también origina compuestos antibióticos u tóxicos que pueden hostilizar varios tipos de microorganismos, incluidas las bacterias, levaduras o hasta otro tipo de hongos (Flores, 2017).

- Esto se debe a la cantidad de compuestos terpénicos que contiene. Los sesquiterpenos, que tienen propiedades bactericidas, son los compuestos terpénicos que tienen esta acción en un superior porcentaje (Flores, 2017).

- El grupo hidroxilo de los flavonoides interactúan con las proteínas de membrana, lo cual aumenta la rigidez y pérdida de la morfo-función. En organismos como *E. coli* inhibe la capacidad de generar biopelículas (Bernal, 2019).
- Los fenoles destruyen la pared, la membrana celular e inactivan los sistemas enzimáticos con mejor acción sobre los Gram positivos (Xu, 2021).
- Las saponinas poseen una capacidad fisicoquímica que disminuye la permeabilidad de membrana y la desintegra (Farfan & Tapia, 2023).
- Los alcaloides isoquinolécicos afectan el ADN de las bacterias al inhibir la actividad de las proteínas y la síntesis de enzimas necesarias para la transcripción (Sepúlveda, 2003).
- Los taninos presentan acción bactericida porque inhiben la absorción de nutrientes en las bacterias (Xu, 2021).

1.2.7 Método de KIRBY - BAUER

El método de Kirby - Bauer, también conocido como disco difusión, es una técnica cualitativa para evaluar la susceptibilidad de un microorganismo a los fármacos antimicrobianos utilizando una concentración estandarizada o conocida. Para clasificar en diferentes dimensiones como: Sensible (S), Intermedio (I) o Resistente (R) (Vazquez, 2020).

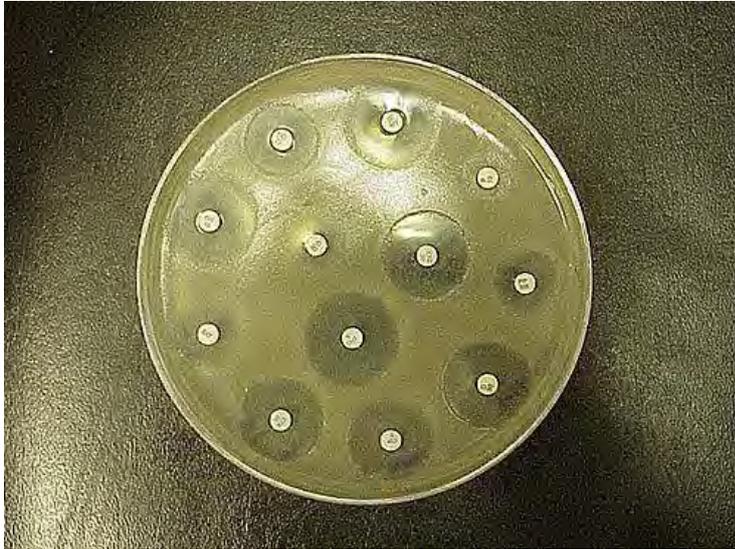
El método consiste en inocular sobre toda la superficie del agar una determinada cantidad de bacterias que debe ser ajustada a 0,5 según la escala de McFarland, para luego colocar sobre ella discos de papel filtro con antibiótico o una sustancia en evaluación para luego medir su capacidad inhibitoria (Farfan & Tapia, 2023).

La sensibilidad mostrada por la bacteria al extracto etanólico se determina mediante la comparación de los halos de sensibilidad creados en el análisis con la escala de Duraffourd,

que tiene las siguientes medidas: sensibilidad nula (menos de 8 mm), sensible (8 – 14 mm), muy sensible (15 – 20 mm) y altamente sensible (más de 20 mm) (Ayala, 2019).

Figura 4

Método de KIRBY - BAUER



Nota. Test de Kirby-Bauer con filtros blancos que contienen antibiótico (Ayala, 2019)

1.2.8 *Escherichia coli* ATCC 35218 (Mingula) Castellani and Chalmers

1.2.8.1 Descripción

Escherichia coli es un bacilo gramnegativo aerobia comensal más numerosa del intestino grueso. Algunas cepas causan heces acuosas y todas ellas pueden provocar una infección si penetran sitios estériles, lo que conduce a la infección activa (Bush & Vazquez, 2022).

1.2.8.2 Características de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 35218

Escherichia coli ATCC 35218 es recomendada por la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) como el organismo de control de calidad para los agentes inhibidores de β -lactámicos- β -lactamasas. Sin embargo, las directrices actuales recomiendan la prueba de *Escherichia coli* ATCC 35218 con medio Mueller-Hinton (MH) (Butler et al., 1999).

La cepa de *Escherichia coli* se aisló de un canino en Tennessee (EE. UU). Esta cepa ATCC 35218, con genoma completo secuenciado, puede utilizarse en pruebas de discos de susceptibilidad o como cepa de control de calidad (ATCC, s.f.).

1.2.8.3 Ubicación taxonómica

Reino: Monera

Filum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacterales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *Escherichia coli*

ATCC: 35218

Según la clasificación de Garrity et al., 2003, p.117

1.2.8.4 Patogenia

El 80 % de las infecciones de tracto urinario son desencadenadas por *Escherichia coli*. De igual manera puede causar enfermedades respiratorias e infecciones en el torrente sanguíneo (CDC, 2022). Comúnmente causa la diarrea del viajero y el peor tipo ocasiona diarrea hemorrágica que a veces puede causar insuficiencia renal llegando hasta la muerte (National Library of Medicine, 2021).

1.2.9 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 subsp. *aureus* Rosenbach

1.2.9.1 Descripción

Pertenece a los Gram positivos con forma de cocos, aunque las cepas viejas o los microorganismos fagocitados se tiñen como Gram negativo. Puede presentarse en racimos, cadenas o parejas. Su diámetro está comprendido de 0,8 a 1,5 micrómetros (μm) y permanece inmóvil. Unas cuantas cepas generan una cápsula externa mucoide que acrecientan su disposición para producir infecciones. Es anaerobio facultativo, coagulasa positiva, catalasa positiva y oxidasa negativa en cuanto a su metabolismo (Insst, s. f.).

1.2.9.2 Características de cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Staphylococcus aureus, cepa Seattle 1945, es un aislado clínico secuenciado de genoma completo. Este cultivo se utiliza como cepa de control de calidad para la prueba CAMP, el análisis de concentrado de humo de leña, la evaluación del agar Mueller-Hinton, el análisis de productos lácteos, las pruebas de medios, la difusión en disco CLSI y para productos Abbott y Autobac (ATCC, s. f.).

1.2.9.3 Ubicación taxonómica

Reino: Monera

Filum: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *Staphylococcus*

Especie: *Staphylococcus aureus*

ATCC: 25923

Según la clasificación de Garrity et al., 2003, p.188

1.2.9.4 Patogenia

Staphylococcus aureus es el agente causal de infecciones profundas como inflamación de hueso (osteomielitis) y endocarditis, ampollas, ronchas, infecciones nosocomiales como también infecciones por intoxicación alimentaria causado por la liberación de enterotoxinas (ABIS online, 2020), comúnmente ocasiona infecciones de la piel, como forúnculos (CDC, 2022).

1.2.10 Descripción del antibiótico

1.2.10.1 Características generales de la Fosfomicina

La fosfomicina (cis-1,2-acido epoxipropilfosfonico) es un antibiótico bactericida de amplio espectro, de acción bactericida frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas (Farfan & Tapia, 2023).

Figura 5

Discos de Fosfomicina 200 µg



Nota. Fosfomicina 200 µg (Farfan & Tapia, 2023)

Es un antibiótico bactericida que bloquea la síntesis de los precursores del peptidoglucano. Es activa in vitro frente a numerosas bacterias grampositivas y gramnegativas, entre ellas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Es resistente a *Bacteroides spp.* (Asociación Española De Pediatría, s.f.).

1.2.10.2 Mecanismo de acción de la Fosfomicina

Su mecanismo de acción es por inhibición de la síntesis de pared celular bacteriana, ya que es incorporada al interior de la célula por el sistema transportador L- α -glicerofosfato y por el sistema de transporte de hexosas fosfatos en muchas especies el cual es inducido por la presencia de glucosa-6-fosfato e inhibido por la presencia de glucosa y fosfatos. Tiene la capacidad de interrumpir la síntesis de la pared celular mediante la inhibición de fosfoenolpiruvato sintetasa, interfiriendo de esa manera con la producción de peptidoglicano e inhibiendo su crecimiento en placa (Werth, 2022).

CAPITULO II

MATERIALES Y METODOLOGÍA

2.1 Procedencia de la muestra

Las muestras frescas de *Pleurotus ostreatus* de calidad comercial fueron adquiridas de la empresa Fungívoro Perú S.A.C – Lima/ Callao Perú garantizando la trazabilidad del origen.

2.2 Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio C-229 de la Facultad de Ciencias Biológicas, en el laboratorio LQ 204 de Bioquímica del departamento de Química de la Facultad de Ciencias, y en el laboratorio de cromatografía y espectrofotometría del pabellón de control de calidad. Todos los laboratorios mencionados se encuentran ubicados en la ciudad universitaria de Perayoc de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

2.3 Material biológico

- *Pleurotus ostreatus* “Hongo Ostra”
- *Escherichia coli* (Mingula) Castellani and Chalmers – ATCC 35218
- *Staphylococcus aureus* subsp. aureus Rosenbach - ATCC 25923

2.4 Material de laboratorio

2.4.1 Equipos

- Autoclave (Phoenix modelo AV-75 PLUS 12X 15)
- Calentador eléctrico (SKR)
- Mechero Bunsen (Chapolab)
- Refrigeradora (Coldex modelo CN 33BL)
- Incubadora (H. W. Kessel S. A. modelo EK-610)
- Baño María (Hubner)
- Balanza analítica (H. W. Kessel S. A. modelo EK-200)

- Rotavapor (PACK-CARD modelo 6890 N)
- Micropipetas y puntas de 5 – 50 μ L (WORNER-LAB)
- Micropipetas y puntas de 10 – 100 μ L (WORNER-LAB)
- Vernier digital (Mitutoyo Absolute 500-196-20)

2.4.2 Material de vidrio

- Placas Petri de vidrio (Pyrex 90 x 15 mm)
- Frascos de vidrio con tapas (herméticos)
- Frasco ámbar de 1L de capacidad
- Tubos de ensayo con capacidad de 5 mL
- Matraz de 250 mL
- Matraz de 500 mL
- Probeta de 100 mL
- Pipeta de 50 mL
- Bagueta
- Frascos ámbar de 100 mL de capacidad
- Frascos pequeños ámbar de vidrio 10 mL

2.4.3 Medios de cultivo

- Agar Mueller Hinton (Britania)
- Caldo BHI (Britania)
- Agar MacConkey (Britania)
- Agar Manitol salado (Britania)

2.4.4 Reactivos

- Etanol de 96° comercial

2.4.5 Otros materiales

- Papel aluminio
- Gasa
- Papel Kraft
- Asa de siembra (1 ul)
- Pabilo
- Hisopos estériles
- Agua destilada
- Pinzas
- Aguja de siembra
- Papel Whatman N°3
- Perforador

2.4.6 Antibiótico de comparación

- Discos de sensibilidad de fosfomicina de 200 µg (Britania)

2.5 Metodología

2.5.1 Tipo de investigación

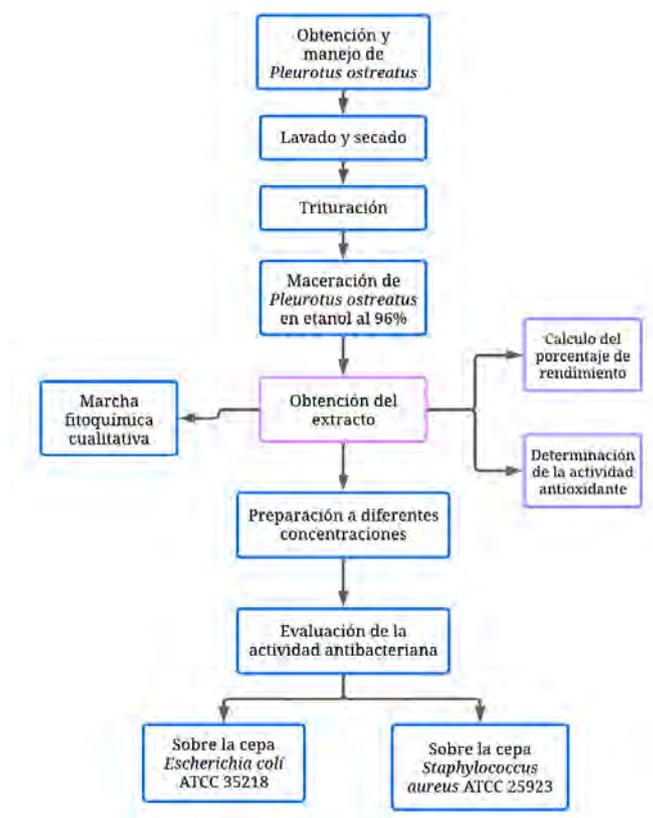
El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, ya que se manipularon de forma controlada la variable independiente (concentraciones del extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus*) para observar su efecto sobre las variables dependientes como la Actividad antioxidante y la actividad antibacteriana.

El enfoque de la investigación es mixto, ya que en la marcha fitoquímica se recopilieron datos cualitativos. Con respecto a la actividad antioxidante y la actividad antibacteriana se recopilieron datos cuantitativos.

Los detalles del procedimiento de la investigación se resumen en el siguiente flujograma:

Figura 6

Flujograma



Nota. Elaboración propia

2.5.2 Línea de investigación

La línea de investigación pertenece a microbiología según la resolución N° 2205-2022-FC-UNSAAC.

2.5.3 Métodos y fundamentos

2.5.3.1 Obtención, Manejo y Trituración

Según la metodología de Flores (2017) las muestras frescas de *Pleurotus ostreatus* se enjuagaron con agua destilada para quitar los residuos que pudiera tener, y se trituraron en diminutos fragmentos para favorecer su extracción.

2.5.3.2 Obtención de extracto etanólico - Método de Maceración

Continuando con la metodología de Flores (2017) que utilizó una proporción 1 : 2 es decir se pesó la cantidad de 150 g de muestra fresca triturada de *Pleurotus ostreatus* con un volumen de 300mL de etanol al 96 %, luego lo llevó a reposar por 1 semana en oscuridad, agitando de 20 a 30 minutos diarios.

Se utilizó 900 g de muestra fresca triturada con un volumen de 1800 mL de etanol al 96% y se llevó a macerar por 2 semanas agitando 20 minutos diarios, al culminar este tiempo se procedió a filtrar y de esta forma se obtuvo el extracto etanólico.

2.5.3.3 Concentración de Extracto Etanólico

Según la metodología de Flores (2017) la concentración del extracto fue gracias al Rotavapor, para lo cual se colocó agua en el Baño María, se encendió el equipo que estuvo conectado con las mangueras apropiadamente. Al matraz de destilación se añadió 150 mL del extracto etanólico. Luego, se sujetó el balón al adaptador y se colocó en el Baño María para el traspaso de vapor. Se abrió la llave de agua que enlaza la manguera al refrigerante y se controló la velocidad de evaporación con el botón de rotación, teniendo una rotación entre 90 a 110 rpm

para así evitar que se genere una capa espesa alrededor del matraz de destilación. Así se repitió el proceso hasta lograr concentrar todo el extracto.

2.5.3.4 Cálculo del porcentaje de rendimiento

Después de separar el extracto del diluyente en el rotavapor, se utilizó un método gravimétrico para calcular el porcentaje de rendimiento, en el cual se tomó en cuenta el peso inicial de *Pleurotus ostreatus* (Pi) y el peso final del extracto etanólico (Pf). Así se logró aplicar la siguiente fórmula. (Olivera & Gutierrez, 2021)

$$\%Pr = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

Pf = Peso final del extracto etanólico alcanzado después del rotavapor

Pi = Peso inicial

% Pr = Porcentaje de rendimiento

2.5.3.5 Marcha química cualitativa

El extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* obtenido después de la maceración fue transferido al Laboratorio de Cromatografía y Espectrofotometría del pabellón de Control de Calidad de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco para efectuar la determinación cualitativa de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, triterpenos, esteroides, saponinas y taninos. Los métodos que fueron utilizados para la obtención de estas pruebas fueron:

2.5.3.5.1 Determinación de compuestos fenólicos por Tricloruro de Hierro

En esta reacción el cloruro férrico es neutralizado con hidróxido sódico hasta que se forme un leve precipitado, posteriormente la disolución neutra de cloruro forma un complejo coloreado transitorio o permanente (Bermejo et al., 2014).

Un resultado positivo se indica cuando se torna un complejo coloreado transitorio o permanente de color púrpura, verde o azul, caso contrario se considera negativo (Farfan & Tapia, 2023).

2.5.3.5.2 Determinación de Flavonoides por reacción de Shinoda

Un resultado positivo se indica con un cambio a color amarillo, naranja, carmelita o rojo intenso en el extracto, producto de la reducción de los flavonoides a antocianidinas, lo que causa un cambio de color y una conjugación extendida (BVS, n.d.).

2.5.3.5.3 Determinación de Alcaloides por reacción de Dragendorff

La reacción se basa en la combinación de los alcaloides con metales pesados, para lo cual se necesita como medio de reacción una solución acuosa ácida (NIH, 2020).

Un resultado positivo se indica con un precipitado anaranjado o rojo anaranjado debido a la reacción entre el reactivo de Dragendorff y los alcaloides (Farfan & Tapia, 2023).

2.5.3.5.4 Determinación de Triterpenos y esteroides por reacción de Liebermann – Burchard

Se fundamenta en la reacción de un esteroide (como el colesterol) en una solución de cloroformo con anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado (Adu et al., 2019).

. Un resultado positivo se indica con un cambio de color de rosa a verde intenso, debido a la formación de polímeros de hidrocarburos no saturados (Farfan & Tapia, 2023).

2.5.3.5.5 Determinación de Saponinas por aparición de Espuma

Se fundamenta en la propiedad tensoactiva de las saponinas, que les permite formar una espuma estable al ser agitadas en una solución acuosa, de manera similar a los detergentes (Mena et al., 2015).

Un resultado positivo se indica con la formación de espuma (Farfan & Tapia, 2023).

2.5.3.5.6 Determinación de Taninos por reacción de Gelatina-sal

Implica la adición de una solución de gelatina con sal a un extracto de la muestra (Lyndon et al., 2009).

Un resultado positivo se indica con la formación de un precipitado gelatinoso de color azul al exponerse a la luz (Farfan & Tapia, 2023).

2.5.3.6 Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH

El extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* fue transferido al Laboratorio de Cromatografía y Espectrofotometría del pabellón de Control de Calidad de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco para efectuar la determinación de la actividad antioxidante.

El método que fue utilizado para la obtención de esta prueba fue el método de DPPH (1,1- difenil-2-picril-hidrazilo) que se fundamenta en la medida del radical DPPH al 80 % diluido en alcohol metílico a 100 μM (3,9 mL) a una longitud de onda de 517 nm. Donde se agrega 0,1 mL de la muestra a utilizar, se combinan bien y se deja en la oscuridad durante 30 minutos. Previamente de agregar la muestra y después de 30 minutos al igual que 60 minutos, se realizan medidas de absorbancia a 517 nm. La concentración de DPPH en el medio de reacción se encuentra utilizando una curva de calibrado que se obtiene mediante regresión lineal. Los hallazgos se muestran en TEAC, que es la actividad equivalente a Trolox ($\mu\text{M}/\text{g}$ de muestra de peso fresco) (Kuskoski et al., 2005).

2.5.3.7 Evaluación de la actividad antibacteriana

Se utilizaron cepas *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de American Type Culture Collection (ATCC) que pertenecen al Laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas.

Se inició con la reactivación de microorganismos Monitores (Bacterias), a partir de caldo BHI, y placas con agar MacConkey y agar Manitol Salado.

2.5.3.7.1 Activación de las cepas

Para ambas cepas se rehidrató el precipitado con 0,5 mL de caldo BHI. Luego se transfirió el contenido a un tubo de ensayo estéril con 5 mL de caldo BHI (Farfan & Tapia, 2023).

Para cultivar la cepa de *Escherichia coli* ATCC 35218, se utilizó 250mL de agar MacConkey. Así mismo, para cultivar la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se utilizó 250mL de agar Manitol Salado.

2.5.3.7.2 Preparación del Medio de Cultivo: Agar Mueller – Hinton

Según Flores (2017) se preparó 1000 mL de Agar Mueller – Hinton a partir del reactivo comercial para un total de 16 placas.

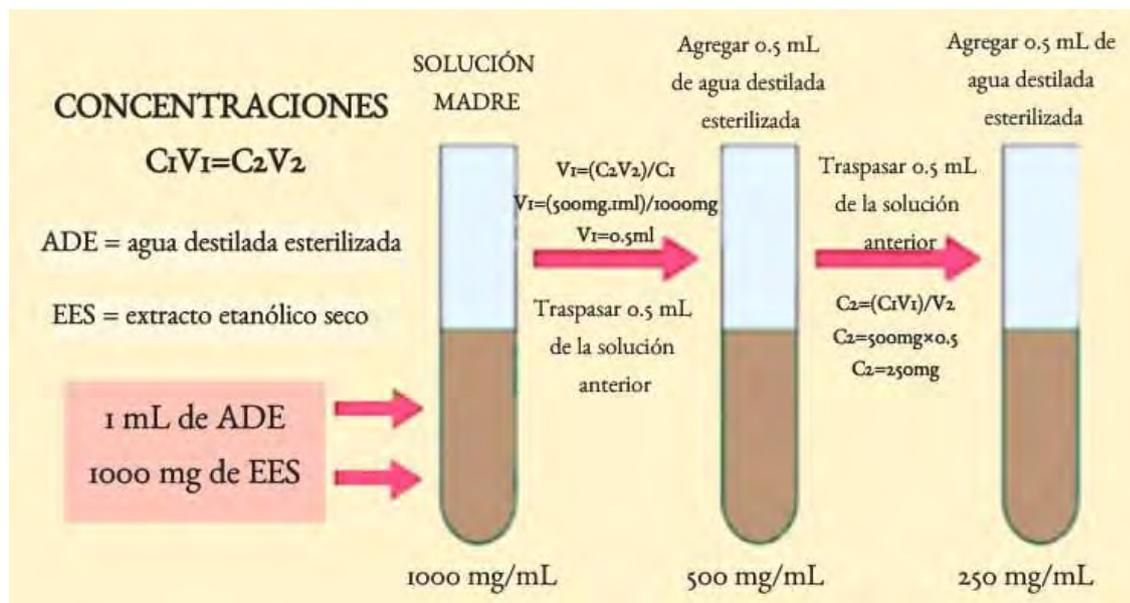
2.5.3.7.3 Diluciones del Extracto para evaluar la actividad antibacteriana

Del extracto etanólico al 96% del hongo *Pleurotus ostreatus* adquirido por maceración y luego concentrado, se tomó concentraciones de 1000mg/mL (100%), 500mg/mL (50%), 250mg/mL (25%), repartiéndolo en tres tubos estériles.

Para las diluciones se utilizó agua destilada esterilizada, ya que no posee efecto bactericida por lo cual no influye en los resultados obtenidos (Flores, 2017). Se prepararon 3 concentraciones de 1000, 500 y 250 mg/mL según estipula el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Flores, 2017).

Figura 7

Preparación de las concentraciones.



Nota. Elaboración propia

2.5.3.7.4 Preparación y siembra del Inóculo

Se usó dos tubos de ensayo cada uno con 3 mL de agua destilada esterilizada. En uno se agregó colonias de *Escherichia coli* (Suspensión A) y al otro se agregó colonias de *Staphylococcus aureus* (Suspensión B). La estandarización del inóculo se realizó visualmente, la turbidez fue ajustada al equivalente del estándar de 0,5 en la escala de McFarland contra un fondo blanco con líneas blancas y negras contrastantes (Farfan & Tapia, 2023). Y se procedió a inocular en la superficie de las placas con Mueller Hinton, esto fue por agotamiento es decir en su totalidad (Flores, 2017).

2.5.3.7.5 Preparación de discos en blanco e inoculación en discos

Para los discos se usó papel filtro Whatman N° 3, el cual fue perforado para generar pequeños círculos los cuales se denominaron como “Disco en blanco” (Farfan & Tapia, 2023).

Posteriormente fueron esterilizados por calor seco en placas de Petri a 150°C por 2 horas y media. Cuando los discos en blanco se enfriaron a 48 se les inoculó 5 µL del extracto

etanólico al 96% obtenido de *Pleurotus ostreatus*, a 16 se les inoculó el control negativo (agua destilada esterilizada) y se dejó secar por 24 horas a temperatura ambiente (Harfouch & Ghosh, 2021).

En la presente investigación se prepararon 80 discos en blanco de los cuales 16 discos fueron inoculados con la concentración de 1000 mg/mL, 16 discos fueron inoculados con la concentración de 500 mg/mL, 16 discos fueron inoculados con la concentración de 250 mg/mL, 16 discos fueron inoculados con el control negativo y 16 discos quedaron como respaldo en caso de daño.

2.5.3.7.6 Control positivo

Se utilizó Fosfomicina a 200 µg como control positivo, ya que es un antibiótico sugerido para el manejo de infecciones provocadas por bacterias Gram negativas multirresistentes y Gram positivas (Farfan & Tapia, 2023).

2.5.3.7.7 Control negativo

Se usó como control negativo agua destilada esterilizada, para no generar ningún tipo de sensibilidad (Flores, 2017).

En los 16 “discos en blanco” de papel filtro se agregó 5 µL del control negativo que fue agua destilada esterilizada, los cuales se dejaron secar por alrededor de 24 horas (Harfouch & Ghosh, 2021).

2.5.3.7.8 Distribución de discos en placas con inóculo bacteriano

En la distribución se utilizó un hisopo estéril donde se aplicó la suspensión A (*Escherichia coli*) en 8 placas y la suspensión B (*Staphylococcus aureus*) en otras 8, sumando un total de 16 placas. Después de la inoculación, se mantuvo la placa en reposo durante 5 minutos a temperatura ambiente (Farfan & Tapia, 2023).

Una vez preparado y sembrado el inóculo bacteriano, con la ayuda de una pinza estéril se colocó sobre la superficie del agar los discos de sensibilidad inoculados con las diferentes concentraciones (1000 mg/mL, 500 mg/mL, 250 mg/mL) del extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus*, los controles positivos (Fosfomicina de 200ug) y negativos (agua destilada esterilizada), dejando una separación de 30 mm entre cada disco y 20 mm de los bordes de la placa, los cuales se colocaron presionando suavemente sobre la placa, garantizando así un contacto total con la superficie del medio de cultivo (Ayala, 2019). Los discos se dejaron secar en el agar por 5 a 10 minutos, transcurridos los 10 minutos, se incubaron las placas a 35 °C durante 18 a 24 horas (Farfan & Tapia, 2023).

La experimentación se realizó en 8 placas para cada cepa, obteniendo en cada placa 5 discos según la distribución de la Tabla 2, y en la (Figura 8) se muestra una descripción gráfica de la distribución de discos en placa (cada análisis de las 8 placas se hizo por triplicado).

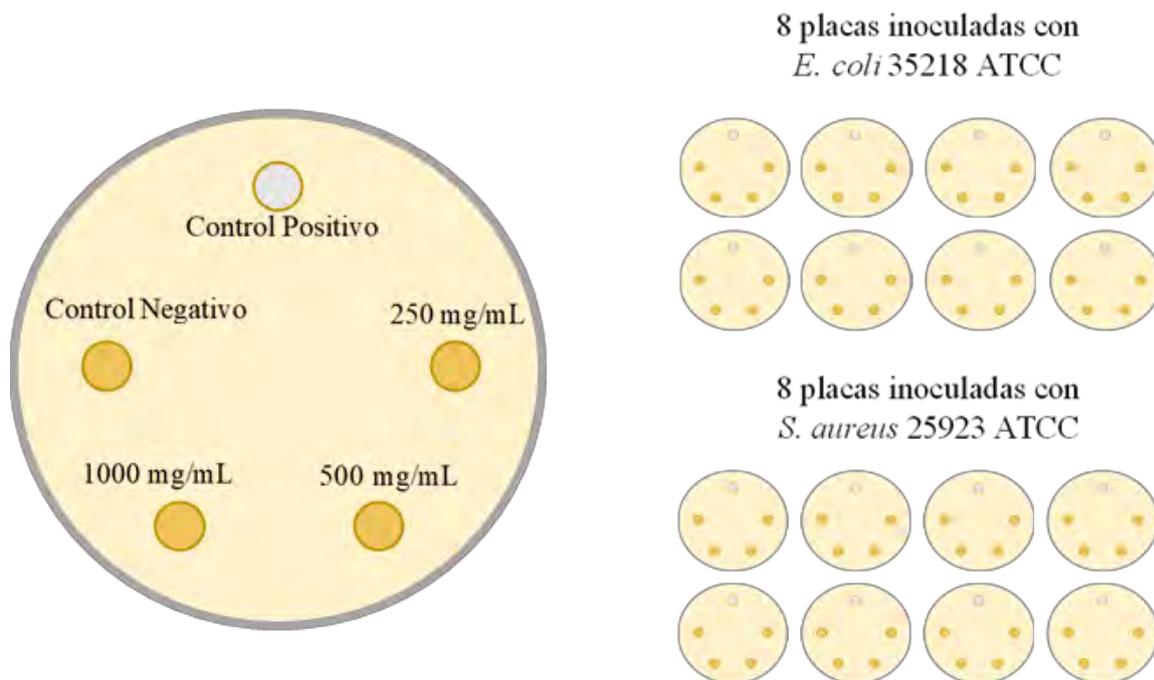
Tabla 2

Distribución de discos por placa inoculados con Escherichia coli y Staphylococcus aureus

Placas de <i>Escherichia coli</i>	Placas de <i>Staphylococcus aureus</i>
1 disco de Fosfomicina de 200 ug (Control Positivo)	1 disco de Fosfomicina de 200 ug (Control Positivo)
1 disco con concentración de 250 mg/mL	1 disco con concentración de 250 mg/mL
1 disco con concentración de 500 mg/mL	1 disco con concentración de 500 mg/mL
1 disco con concentración de 1000 mg/mL	1 disco con concentración de 1000 mg/mL
1 disco con agua destilada esterilizada (Control Negativo)	1 disco con agua destilada esterilizada (Control Negativo)

Figura 8

Distribución de discos en cada una de las placas



Nota. Distribución de discos (Farfan & Tapia, 2023)

2.5.3.7.9 Lectura de las placas

En cada una de las placas se tomó las medidas del halo de inhibición generado y se realizó con la ayuda de un vernier digitalizado (Farfan & Tapia, 2023).

Posteriormente dichas medidas fueron clasificadas según la escala de Duraffourd (Ayala, 2019).

- Sensibilidad nula (<8 mm)
- Sensible (8 – 14 mm)
- Muy sensible (15 – 20 mm)
- Altamente sensible (>20 mm)

2.5.3.8 Análisis de datos estadísticos:

La información recolectada fue organizada en el programa Microsoft Excel versión 2108, luego se procesó en el programa IBM SPSS Statistics 31,0 la distribución de media, mediana, moda, desviación estándar, varianza, rango, mínimo y máximo, frecuencia absoluta,

porcentual, y test de Chi cuadrado, empleando un nivel de confianza de 95 % (Farfan & Tapia, 2023).

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Rendimiento de la extracción etanólica al 96% de *Pleurotus ostreatus*

Considerando que el peso inicial de *Pleurotus ostreatus* fue de 900 g. Tras el proceso de extracción etanólico de metabolitos secundarios y su separación del disolvente con ayuda del rotavapor se obtuvo un peso final de 67,877 g.

Con los datos obtenidos se logró hallar el porcentaje de rendimiento mediante la fórmula, donde el porcentaje de rendimiento obtenido después de la maceración de 2 semanas de *Pleurotus ostreatus* fue de 7,54%, en comparación con el estudio de Flores (2017) quien a partir de 150 g de muestras frescas de *Pleurotus ostreatus* maceradas por 1 semana se obtuvo 6,39 g de extracto puro y determinó un porcentaje de rendimiento de 4,26%.

Con esta comparación de estudios se determinó que su porcentaje de rendimiento fue menor al nuestro en un 43,5%, esta diferencia significativa sugiere que la optimización del tiempo de maceración al doble de duración es un factor determinante para maximizar la obtención del extracto. Asimismo, las diferencias de peso influyen en el peso final de la extracción.

3.2 Marcha fitoquímica cualitativa del extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus*

Los resultados obtenidos de las múltiples reacciones químicas del extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus* fueron sistematizados en la Tabla 3 donde se detalla el tipo de metabolito secundario, método, coloración, resultados e interpretación donde: Abundante= +++, Poco= ++, muy poco= +, Ausente =.

Se observa la presencia de flavonoides (poco), triterpenos y esteroides (muy poco).

Tabla 3*Marcha fitoquímica cualitativa del extracto etanólico de Pleurotus ostreatus*

Metabolito secundario	Método	Coloración	Resultados	Interpretación
Compuestos Fenólicos	Tricloruro de Hierro	Sin reacción	-	Ausente
Flavonoides	Shinoda	Naranja	++	Poco
Alcaloides	Dragendorff	Sin reacción	-	Ausente
Triterpenos y Esteroides	Liebermann-Burchard	Verde claro	+	Muy poco
Saponinas	Espuma	Sin reacción	-	Ausente
Taninos	Gelatina	Sin reacción	-	Ausente

Nota: Abundante= +++, Poco= ++, muy poco= +, Ausente = -

Esto se puede deber probablemente a las características del entorno del hongo como el clima o a la temperatura utilizada en el proceso de extracción por el rotavapor ya que estos metabolitos pueden disminuir significativamente al ser sometida a altas temperaturas (García et al., 2022).

Los datos presentados en el cuadro concuerdan con estudios realizados en México por Valencia del Toro et al. (2008), a pesar que utilizó Hexano para el proceso de maceración, ya que determinaron la presencia de Flavonoides, Triterpenos y Esteroides.

Cinco autores mencionados en los antecedentes (Rivero et al., Flores, Lara et al., Flores y Valencia del Toro et al.) realizaron el análisis fitoquímico para determinar cualitativamente los metabolitos secundarios de *Pleurotus*, los cuales se detallan en la Tabla 4:

Tabla 4*Antecedentes de otros autores en la marcha química para metabolitos secundarios*

Autor Metabolito secundario	Presente investigación <i>(P. ostreatus)</i>	Rivero et al. 2024 <i>(P. djamor)</i>	Flores 2017 <i>(P. ostreatus)</i>	Flores 2021 <i>(P. ostreatus)</i>	Lara et al. 2017 <i>(P. ostreatus)</i>	Valencia del Toro et al. 2008 <i>(P. djamor)</i>
Alcaloides	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
Flavonoides	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
Compuestos Fenólicos	Negativo	Sin evaluar	Positivo	Negativo	Sin evaluar	Sin evaluar
Triterpenos y Esteroides	Positivo	Positivo	Positivo	Sin evaluar	Negativo	Positivo
Saponinas	Negativo	Negativo	Positivo	Sin evaluar	Negativo	Negativo
Taninos	Negativo	Sin evaluar	Positivo	Sin evaluar	Negativo	Negativo
Quinonas	Sin evaluar	Negativo	Negativo	Sin evaluar	Sin evaluar	Negativo
Lugar	Cusco – Perú	Perú	Ecuador	Ecuador	México	México

En el estudio de Rivero et al. (2024) en el cual sus muestras de *Pleurotus djamor* fueron colectadas en Cusco (La Convención), difiere con respecto a la presente investigación ante la presencia de alcaloides, esto puede deberse a la diferencia entre las altitudes de donde se obtuvieron las muestras.

Mientras que en el estudio de Rivero et al. (2024) no encontraron la presencia de flavonoides en *Pleurotus djamor* en esta investigación si se confirmó la presencia del

metabolito secundario antes mencionado, esto sugiere que *Pleurotus ostreatus* podría ser una fuente más estable de flavonoides.

Aunque en el estudio de Flores (2017) se utilizó el mismo método de extracción (rotavapor) con setas frescas de *Pleurotus ostreatus*, la marcha química demostró la presencia de: compuestos fenólicos, saponinas y taninos, sin embargo, las muestras utilizadas en la presente investigación no presentaron estos metabolitos. Esto refuerza la conclusión de Beltrán et al. (2024) que indica que el tipo de suelo y el entorno (factores abióticos) modifican la composición química final, incluso dentro de la misma especie.

Así mismo se evidenció la presencia de flavonoides, triterpenos y esteroides; de acuerdo a sus resultados, estos compuestos fitoquímicos presentan actividad antibacteriana.

Con respecto al estudio de Lara et al. (2017) realizada en México, en ambas investigaciones se utilizó *P. ostreatus* pero la marcha química de las muestras del hongo presentó alcaloides, pero no Triterpenos y Esteroides los cuales si se evidenciaron en la presente investigación; la discrepancia de los resultados se podría atribuir a que las muestras de Lara fueron sometidas a una técnica de secado que afectó la presencia de los metabolitos.

En el estudio de Flores (2021) se demostró la presencia de Alcaloides, dicho metabolito no se presentó en la presente investigación.

En comparación con la marcha química de las muestras de hongo fresco utilizadas en México en el estudio de Valencia del Toro et al. (2008) se obtuvo la presencia de los mismos metabolitos secundarios, siendo estos los Flavonoides, Triterpenos y Esteroides. Donde concluyeron que los terpenos son implicados como el fitoconstituyente responsable de su actividad antibacteriana.

La coincidencia en la presencia de Triterpenos y esteroides en la mayoría de los autores consultados tanto para *P. ostreatus* y *P. djamor* (Rivero et al., 2024; Flores, 2017; y Valencia

del Toro et al., 2008) reafirman que estos metabolitos secundarios son constituyentes fundamentales del género.

3.3 Actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus*

Se observó que la actividad antioxidante obtenida por el método DPPH del extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus* fue de 38,3%. Dos autores mencionados en los antecedentes (Flores, 2021; Beltrán et al., 2024) realizaron el análisis para la actividad antioxidante según el método DPPH, los cuales se detallan en la Tabla 5:

Tabla 5

Antecedentes de otros autores con el método DPPH

Antioxidantes método DPPH					
Presente investigación	Flores (2021)				Beltrán et al. (2024)
Extracto etanólico	Extracto etanólico 96%	Extracto acuoso	Acido ascórbico puro	Vitamina C	Extracto acuoso
38,3 %	47,26%	86,41%	81,52%	14,16%	18,94 %

Con respecto al estudio de Flores (2021) donde se evidenció un porcentaje de inhibición de 47,26% en su extracto etanólico, 86,41% en su extracto acuoso, mientras las sustancias de referencia fueron: acido ascórbico puro con un porcentaje de 81,52% y de la Vitamina C comercial que fue de 14,16%; se determinó que su resultado del extracto etanólico al 96% fue mayor en 18,95% al resultado del extracto etanólico al 96% obtenido en la investigación. Esta diferencia significativa sugiere que la optimización del tiempo de maceración al doble de duración es un factor que influye en la presencia de los metabolitos responsables de la captación de radicales libres. Además, se observó que su extracto acuoso presentó mayor actividad antioxidante que el extracto etanólico usado en su estudio y en la presente investigación, esto puede deberse a que en su extracto acuoso hubo presencia de flavonoides lo cual refuerza lo que menciona Effiong et al. (2024), que estos son captadores de radicales libres por excelencia.

En la presente investigación el extracto etanólico presentó mayor actividad antioxidante que la Vitamina C, pero menor actividad que el Acido ascórbico que fueron patrones de referencia en el estudio de Flores (2021).

En el estudio de Beltrán et al. (2024) se observó mucha diferencia en comparación al estudio de Flores (2021) respecto al extracto acuoso de *Pleurotus ostreatus*, esto puede deberse que en la primera investigación el cultivo se realizó en sustrato de pulpa de café mientras que en la segunda investigación fue obtenido comercialmente.

3.4 Actividad antibacteriana *in vitro* generada por el Extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus* a diferentes concentraciones

Se realizó la evaluación en las 16 placas mediante la medición del diámetro de halos de inhibición de las diferentes concentraciones en el estudio, después de la incubación por 24 horas a 35 °C, los resultados obtenidos se sintetizan en la tabla 6 y 7.

3.4.1 Frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218

Tabla 6

Antibiograma en placas inoculadas con E. coli

Tamaño del halo generado en <i>Escherichia coli</i> en milímetros					
Nº de placa	Control Positivo (Fosfomicina 200ug)	Control Negativo	1000mg/mL (100%)	500mg/mL (50%)	250 mg/mL (25%)
1	37,22 (AS)	0,0 (R)	10,38 (S)	9,97 (S)	8,89 (S)
2	38,47 (AS)	0,0 (R)	8,63 (S)	8,05 (S)	7,24 (R)
3	38,93 (AS)	0,0 (R)	9,03 (S)	8,95 (S)	8,11 (S)
4	39,33 (AS)	0,0 (R)	9,81 (S)	9,13 (S)	8,81 (S)
5	37,46 (AS)	0,0 (R)	9,97 (S)	8,15 (S)	7,87 (R)
6	40,54 (AS)	0,0 (R)	9,35 (S)	8,98 (S)	7,65 (R)
7	37,48 (AS)	0,0 (R)	8,05 (S)	7,63 (R)	7,03 (R)
8	39,12 (AS)	0,0 (R)	8,96 (S)	8,68 (S)	8,12 (S)

La clasificación de valores en la Tabla 6 se realizó de acuerdo a la escala de Duraffourd, donde <8mm es Resistente (R), 8 – 14mm es Sensible (S), 15 – 20mm es Muy Sensible (MS) y >20mm es Altamente Sensible (AS).

Se observan los siguientes resultados de la medición de los diámetros de halos de inhibición generados por las distintas concentraciones del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* frente a la cepa control *Escherichia coli* ATCC 35218, donde:

En todas las placas de la concentración de 1000 mg/mL (100%), se observó actividad antibacteriana, clasificadas como Sensible (S).

En las placas de concentración de 500 mg/mL (50%) se observó actividad antibacteriana clasificada como Sensible (S), excepto en la placa 7 que fue clasificada como Resistentes (R).

En las placas de concentración de 250 mg/mL (25%) solo se observó actividad antibacteriana clasificada como Sensible (S) en las placas 1, 3, 4 y 8; mientras que las placas 2, 5, 6 y 7 fueron clasificadas como Resistentes (R).

A diferencia de lo reportado por Flores (2017), quien no observó inhibición frente a *E. coli*, los resultados del presente estudio demuestran que el extracto de *P. ostreatus* posee una actividad antibacteriana a altas concentraciones (1000 mg/mL). Esta discrepancia podría atribuirse a que las muestras fueron adquiridas de diferentes zonas geográficas y esto pudo influir en la presencia de los metabolitos secundarios que confieren estas propiedades antibacterianas.

La sensibilidad observada en el 50% de las placas a una concentración de 250 mg/mL sugiere que el extracto mantiene propiedades antibacterianas incluso bajo dilución, lo cual refuerza lo hallado por Lara et al. (2017) sobre la eficacia del extracto en su concentración de 98,75 mg/mL.

Al comparar con Sutthisa y Anujakkawan (2023) se observa una coincidencia en la potencialidad de *P. ostreatus*, aunque ellos obtuvieron mejores resultados con acetato de etilo que con el etanol, esta diferencia sugiere que la concentración del solvente y la polaridad pueden influir en la liberación de los compuestos bioactivos.

3.4.2 Frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla 7

Antibiograma en placas inoculadas con S. aureus

Tamaño del halo generado en <i>Staphylococcus aureus</i> en milímetros					
Nº de placa	Control Positivo (Fosfomicina 200ug)	Control Negativo	1000mg/mL (100%)	500mg/mL (50%)	250 mg/mL (25%)
1	41,26 (AS)	0,0 (R)	9,36 (S)	9,28 (S)	8,69 (S)
2	45,36 (AS)	0,0 (R)	10,28 (S)	9,41 (S)	8,04 (S)
3	46,48 (AS)	0,0 (R)	8,18 (S)	7,92 (R)	7,02 (R)
4	44,33 (AS)	0,0 (R)	7,83 (R)	7,44 (R)	7,16 (R)
5	43,03 (AS)	0,0 (R)	7,64 (R)	7,35 (R)	6,91 (R)
6	45,10 (AS)	0,0 (R)	8,14 (S)	8,01 (S)	7,63 (R)
7	41,25 (AS)	0,0 (R)	8,05 (S)	7,68 (R)	7,04 (R)
8	42,89 (AS)	0,0 (R)	8,68 (S)	8,35 (S)	8,22 (S)

En las placas de la concentración de 1000 mg/mL (100%), se observó actividad antibacteriana clasificadas como Sensible (S), excepto en la placa 4 y placa 5 que fueron clasificadas como Resistentes (R).

En las placas de concentración de 500 mg/mL (50%) se observó actividad antibacteriana clasificada como Sensible (S) en las placas 1, 2, 6 y 8; mientras que las placas 3, 4, 5 y 7 fueron clasificadas como Resistentes (R).

En las placas de concentración de 250 mg/mL (25%) solo se observó actividad antibacteriana clasificada como Sensible (S) en las placas 1, 2 y 8; mientras que el resto de placas fueron clasificadas como Resistentes (R).

En contraste con el estudio de Flores (2017) donde no halló actividad contra *E. coli* pero sí encontró actividad bactericida sobre *Staphylococcus aureus* con un halo de inhibición de 10mm, esto refuerza la idea de que *S. aureus* es más susceptible a los metabolitos de *Pleurotus ostreatus*.

Con respecto al estudio de Lara et al. (2017) ellos lograron halos de inhibición con concentraciones mucho más bajas (98,75 mg/mL y 24,68mg/mL) en *Staphylococcus aureus*. En cambio, este estudio demostró actividad antibacteriana en las concentraciones de 1000mg/mL (100%) y en la mitad de placas con las concentraciones de 500 mg/mL (50%); se puede deber probablemente a que ellos emplearon una técnica de secado que concentró los principios activos, mientras que en este estudio el extracto crudo requirió dosis más altas para asegurar una actividad antibacteriana.

Al comparar con Sutthisa y Anujakkawan (2023) también se observa una coincidencia en la potencialidad del extracto de *P. ostreatus* tanto con el etanol al 96% y 95%.

Todo esto reforzado por Flores (2017) y Lara et al., (2017) demuestran que las bacterias Gram -positivas como *Staphylococcus aureus* son más susceptibles a los extractos de *Pleurotus ostreatus* que las Gram-negativas como *Escherichia coli*.

3.5 Análisis de los datos obtenidos por antibiograma

3.5.1 Media, Mediana, Moda

Se realizó los estadísticos como la media según los datos obtenidos en la Tabla 6 para *E. coli* y en la Tabla 7 para *S. aureus*, para poder hallar el promedio aritmético de los halos de inhibición generados por el extracto etanólico, la mediana para hallar un punto medio entre estos valores, la moda para determinar el valor repetido y los límites para determinar el menor y mayor valor. En la Tabla 8 se muestran los resultados para *Escherichia coli*. En la Tabla 9 se muestran los resultados para *Staphylococcus aureus*.

Tabla 8

Media, mediana y moda del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa E. coli ATCC 35218

<i>E. coli</i>			
	Media	Mediana	Moda
Concentración de 1000 mg/mL	9,27	9,19	9,00
Concentración de 500 mg/mL	8,69	8,82	9,00
Concentración de 250 mg/mL	7,97	7,99	8,10
Control Positivo	38,57	38,70	37,50
Control Negativo	0,00	0,00	0,00

Se puede observar que existe una disminución clara y progresiva en los halos de inhibición a medida que se reduce la concentración. Ya que a 1000 mg/mL, la media es de 9,27 mm, bajando a 8,69 mm (500 mg/mL) y finalmente a 7,97 mm (250 mg/mL). Esto confirma que la actividad antibacteriana depende estrictamente de la cantidad de metabolitos secundarios presentes en la solución.

La cercanía entre la Media, Mediana y Moda en todas las concentraciones sugiere que los datos tienen una distribución normal y que el experimento es reproducible y preciso.

Comparando la media con el control positivo (38,57 mm) es significativamente superior al extracto. Esto demuestra que, aunque el extracto es eficaz, su potencia como producto crudo aún está lejos de un antibiótico purificado y concentrado.

Finalmente, el halo de inhibición promedio de 9,27 mm a la máxima concentración (1000 mg/mL) demuestra la capacidad del extracto para penetrar la barrera de las bacterias Gram-negativas, un hallazgo que supera lo reportado por Flores (2017). La reducción de la media a 7,97 mm en la concentración de 250 mg/mL coincide con la pérdida de sensibilidad en el 50% de las muestras, lo que sugiere que esta dosis representa el límite de eficacia

biológica del extracto crudo. Esta variabilidad frente a otros autores como Lara et al. (2017) se atribuye principalmente a la ausencia de procesos de concentración por secado.

Tabla 9

Media, mediana y moda del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa Staphylococcus aureus ATCC 25923

<i>S. aureus</i>			
	Media	Mediana	Moda
Concentración de 1000 mg/mL	8,52	8,16	8,10
Concentración de 500 mg/mL	8,18	7,97	7,40
Concentración de 250 mg/mL	7,59	7,40	7,00
Control Positivo	43,71	43,68	41,30
Control Negativo	0,00	0,00	0,00

Se puede observar que la media del halo de inhibición disminuye de forma progresiva con la dilución: 8,52 mm (1000 mg/mL), 8,18 mm (500 mg/mL) y 7,59 mm (250 mg/mL). Esta relación lineal confirma que la concentración de metabolitos secundarios es el factor determinante en la actividad antibacteriana.

La cercanía entre la Media (8,52) y la Mediana (8,16) en la concentración máxima sugiere que los datos no presentan sesgos extremos y que el extracto tiene un comportamiento predecible sobre esta cepa Gram-positiva. Aunque el extracto es eficaz, el control positivo muestra un halo drásticamente mayor (43,71 mm), lo que indica que, si bien el hongo posee propiedades antibacterianas, se requiere de un proceso de purificación o mayor concentración para intentar competir con antibióticos comerciales.

Finalmente, la actividad antibacteriana frente a *S. aureus* demostró una eficacia persistente, con una media máxima de 8,52 mm. Este hallazgo corrobora la sensibilidad de las bacterias Gram-positivas a los metabolitos de *P. ostreatus*, en línea con lo reportado por Flores (2017). Sin embargo, al comparar con Lara et al. (2017), se observa que este estudio requirió

concentraciones significativamente más elevadas para obtener halos similares. Esta discrepancia sugiere que la ausencia de un proceso de secado en la obtención de nuestro extracto mantiene los compuestos bioactivos en una matriz más diluida.

3.5.2 Desviación estándar, Varianza, Rango, Mínimo y Máximo

Se halló la desviación estándar y varianza para saber cuál es la dispersión que presentan los halos lejanos al promedio. El mínimo es el valor más bajo y el máximo para el valor más alto; ambos se hallaron para determinar el rango.

3.5.2.1 Sobre la cepa *E. coli* ATCC 35218

Tabla 10

*Desviación estándar y varianza de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de *Pleurotus ostreatus* sobre la cepa *E. coli* ATCC 35218*

	D. Estándar	Varianza
Concentración de 1000 mg/mL	0,76	0,58
Concentración de 500 mg/mL	0,74	0,54
Concentración de 250 mg/mL	0,67	0,45
Control Positivo	1,14	1,31
Control Negativo	0,00	0,00

La Tabla 10 revela una baja dispersión en los halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC 35218 con desviaciones estándar que oscilan entre 0,67 y 0,76 lo que significa que, al tener una desviación estándar menor a 1 indica que los halos de inhibición en las distintas placas de una misma concentración fueron muy similares entre sí. Esta homogeneidad en los resultados sugiere que la técnica de maceración e inoculación del extracto etanólico al 96% fue uniforme.

Al comparar la varianza del extracto frente al control positivo (1,31), se observa que el extracto mantuvo un efecto más uniforme en las repeticiones. Esta estabilidad refuerza la validez de la actividad antibacteriana encontrada, incluso en concentraciones de 500 mg/mL donde la media de inhibición se sitúa en 8,69 mm.

Tabla 11

Mínimo y máximo de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa E. coli ATCC 35218

	Mínimo	Máximo
Concentración de 1000 mg/mL	8,1	10,4
Concentración de 500 mg/mL	7,6	10,0
Concentración de 250 mg/mL	7,0	8,9
Control Positivo	37,2	40,5
Control Negativo	0,00	0,00

Los valores extremos presentados en la Tabla 11 refuerzan la confiabilidad del extracto de *P. ostreatus*. El hecho de que el valor mínimo a 1000 mg/mL (8,1 mm) sea superior al mínimo de las concentraciones inferiores subraya la consistencia de la actividad bactericida dosis-dependiente.

Esta estabilidad en el rango de inhibición contrasta con la nulidad reportada por Sutthisa y Anujakkawan (2023) para extractos etanólicos al 95% en *E. coli*, sugiriendo que la preparación al 96% empleada en este estudio optimiza la extracción de metabolitos secundarios críticos.

También se observa que el máximo de la concentración de 250 mg/mL (8,9 mm) es superior al mínimo de la concentración de 1000 mg/mL (8,1mm). Esto indica que, aunque hay una tendencia clara, existe una variabilidad natural en la difusión de los metabolitos en el agar.

Tabla 12

Rango de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa E. coli ATCC 35218

	Rango
Concentración de 1000 mg/mL	2,3
Concentración de 500 mg/mL	2,3
Concentración de 250 mg/mL	1,9
Control Positivo	3,3
Control Negativo	0,00

Las concentraciones de 1000 mg/mL y 500 mg/mL presentan un rango idéntico de 2,3. Esto indica que, a pesar de tener una carga de biomasa distinta, la variabilidad en la difusión de los metabolitos secundarios se mantuvo constante. Sin embargo, en la concentración de 250 mg/mL el rango disminuyó a 1,9 lo que sugiere que, a menor concentración del extracto, los resultados fueron más homogéneos.

Esta baja dispersión de los datos refuerza la fiabilidad del extracto etanólico al 96% frente a *E. coli*, permitiendo concluir que los halos de inhibición registrados (Media 9,27 mm a 1000 mg/mL) son representativos de la actividad antibacteriana real del hongo y no producto de variaciones experimentales de suerte.

Finalmente, el rango del control positivo (3,3) es superior al de las concentraciones, esto indica que el extracto etanólico de *P. ostreatus* tuvo un comportamiento más predecible que el propio antibiótico de control.

3.5.2.2 Sobre la cepa *S. aureus* ATCC 25923

Tabla 13

Desviación estándar y varianza de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa S. aureus ATCC 25923

	D. Estándar	Varianza
Concentración de 1000 mg/mL	0,89	0,79
Concentración de 500 mg/mL	0,79	0,62
Concentración de 250 mg/mL	0,66	0,44
Control Positivo	1,92	3,70
Control Negativo	0,00	0,00

La Tabla 13 refleja una alta precisión en la actividad antimicrobiana de *P. ostreatus* frente a *S. aureus*, con una desviación estándar máxima de apenas 0,89. Esta homogeneidad, superior incluso a la del control positivo (Varianza 3,70), valida la estabilidad de los compuestos bioactivos en el extracto etanólico al 96%. Esta consistencia estadística refuerza los hallazgos de Flores (2017) y Sutthisa & Anujakkawan (2023) sobre la susceptibilidad de esta cepa Gram-positiva, demostrando que el extracto crudo, a pesar de no estar concentrado mediante secado, ofrece una respuesta inhibitoria reproducible y confiable.

Tabla 14

Mínimo y máximo de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa S. aureus ATCC 25923

	Mínimo	Máximo
Concentración de 1000 mg/mL	7,6	10,3
Concentración de 500 mg/mL	7,4	9,4
Concentración de 250 mg/mL	6,9	8,7
Control Positivo	41,3	46,5
Control Negativo	0,00	0,00

El máximo de la concentración más baja (8,7 mm) es superior al mínimo de la concentración más alta (7,6 mm). Esto sugiere que la respuesta biológica puede variar ligeramente, posiblemente por la distribución de los principios activos en el agar.

Además, estos valores máximos de 10,3 mm muestran que el extracto tiene el potencial de generar zonas de exclusión significativas para un producto natural crudo y son consistentes con el halo de 10 mm reportado por Flores (2017).

Tabla 15

Rango de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus sobre la cepa S. aureus ATCC 25923

	Rango
Concentración de 1000 mg/mL	2,6
Concentración de 500 mg/mL	2,1
Concentración de 250 mg/mL	1,8
Control Positivo	5,2
Control Negativo	0,00

Se observa que el rango disminuye a medida que baja la concentración: 2,6 (1000mg/mL), 2,1 (500 mg/mL) y 1,8 (250 mg/mL). Esto indica que, a menor concentración, el comportamiento del extracto fue más homogéneo y predecible.

Finalmente, todos los rangos del extracto de *Pleurotus ostreatus* son significativamente menores al rango del control positivo (5,2), lo cual demuestra que el extracto fue más estable y sugiere una acción antibacteriana más uniforme en su difusión que el antibiótico comercial de referencia.

3.5.3 Prueba de chi cuadrado

Con esta prueba podemos corroborar la veracidad de nuestra hipótesis. Debemos tomar en cuenta que la prueba de antibiograma permite articular 2 grupos fundamentales por la escala de sensibilidad de Duraffourd (Sensible y no Sensible).

3.5.3.1 Sobre la cepa *E. coli* ATCC 35218

Tabla 16

Clasificación y cuantificación de los datos obtenidos por tamaño del halo a las diferentes concentraciones con la cepa E. coli ATCC 35218

	Sensible	No es sensible	TOTAL
1000 mg/mL	8	0	8
500 mg/mL	7	1	8
250 mg/mL	4	4	8
0 mg/mL	0	8	8

En la tabla 16 se obtuvo que a la concentración de 1000 mg/mL había 8 elementos sensibles, a la concentración de 500 mg/mL había 7 elementos sensibles y a la concentración de 250 mg/mL había 4 elementos sensibles.

Con estos datos obtenidos se procedió a realizar la tabla de valores observados que muestra el recuento (Tabla 17), la tabla de valor porcentual (Tabla 18), la tabla de valores esperados (Tabla 19).

Finalmente, con todos estos datos se procedió a realizar la prueba de chi cuadrado que se muestra en la Tabla 20.

Tabla 17*Tabla de valores observados para la cepa E. coli ATCC 35218*

TABLA DE CONTINGENCIA					
	1000 mg/mL	500 mg/mL	250 mg/mL	0 mg/mL	TOTAL
Sensible	8	7	4	0	19
No es sensible	0	1	4	8	13
TOTAL	8	8	8	8	32

Tabla 18*Tabla de valor porcentual para la cepa E. coli ATCC 35218*

TABLA DE VALOR PORCENTUAL					
	1000 mg/mL	500 mg/mL	250 mg/mL	0 mg/mL	TOTAL
Sensible	100%	87,5%	50%	0%	59%
No es sensible	0%	12,5%	50%	100%	41%
TOTAL	100%	100%	100%	100%	100%

Tabla 19*Tabla de valores esperados para la cepa E. coli ATCC 35218*

TABLA DE FRECUENCIAS ESPERADAS					
	1000 mg/mL	500 mg/mL	250 mg/mL	0 mg/mL	TOTAL
Sensible	5	5	5	5	20
No es sensible	3	3	3	3	12
TOTAL	8	8	8	8	32

Tabla 20

Prueba de chi cuadrado para los resultados obtenidos para la cepa E. coli ATCC 35218

Chi cuadrado	20,081
Grado de libertad	3
Error	0,05
Confianza	0,95
Valor crítico	7,81
Coefficiente de Cramer	0,792

Debido que el Chi-cuadrado calculado (20,081) es significativamente mayor que el Valor crítico (7,81), se rechaza la hipótesis nula. Esto demuestra que existe una relación estadísticamente significativa entre la concentración del extracto de *Pleurotus ostreatus* y la actividad antibacteriana observada.

Respecto al Coeficiente de Cramer (0,792), al ser cercano a 1, indica una asociación fuerte entre las variables. No solo hay una relación, sino que la concentración del extracto tiene un impacto muy alto en la inhibición del crecimiento de la bacteria.

Finalmente, al utilizar un nivel de confianza de 0,95 indica que se tiene un 95% de seguridad de que los resultados son verídicos.

3.5.3.2 Sobre la cepa *S. aureus* ATCC 25923

Tabla 21

Clasificación y cuantificación de los datos obtenidos por tamaño del halo a las diferentes concentraciones con la cepa S. aureus ATCC 25923

	Sensible	No es sensible	TOTAL
1000 mg/mL	6	2	8
500 mg/mL	4	4	8
250 mg/mL	3	5	8
0 mg/mL	0	8	8

En la tabla 21 se obtuvo que a la concentración de 1000 mg/mL había 6 elementos sensibles, a la concentración de 500 mg/mL había 4 elementos sensibles y a la concentración de 250 mg/mL había 3 elementos sensibles.

Con estos datos obtenidos se procedió a realizar la tabla de valores observados que muestra el recuento (Tabla 22), la tabla de valor porcentual (Tabla 23), la tabla de valores esperados (Tabla 24).

Finalmente, con todos estos datos se procedió a realizar la prueba de chi cuadrado que se muestra en la Tabla 25.

Tabla 22

Tabla de valores observados para la cepa S. aureus ATCC 25923

TABLA DE CONTINGENCIA					
	1000 mg/mL	500 mg/mL	250 mg/mL	0 mg/mL	TOTAL
Sensible	6	4	3	0	13
No es sensible	2	4	5	8	19
TOTAL	8	8	8	8	32

Tabla 23

Tabla de valor porcentual para la cepa S. aureus ATCC 25923

TABLA DE VALOR PORCENTUAL					
	1000 mg/mL	500 mg/mL	250 mg/mL	0 mg/mL	TOTAL
Sensible	75%	50%	37,50%	0%	41%
No es sensible	25%	50%	62,50%	100%	59%
TOTAL	100%	100%	100%	100%	100%

Tabla 24

Tabla de valores esperados para la cepa *S. aureus* ATCC 25923

TABLA DE FRECUENCIAS ESPERADAS					
	1000 mg/mL	500 mg/mL	250 mg/mL	0 mg/mL	TOTAL
Sensible	3	3	3	3	12
No es sensible	5	5	5	5	20
TOTAL	8	8	8	8	32

Tabla 25

Prueba de chi cuadrado para los resultados obtenidos para la cepa *S. aureus* ATCC 25923

Chi cuadrado	9,717
Grado de libertad	3
Error	0,05
Confianza	0,95
Valor crítico	7,81
Coefficiente de Cramer	0,551

Debido que el Chi-cuadrado calculado (9,717) es mayor que el Valor crítico (7,81). Esto significa que los resultados no son producto del azar. Existe una relación real y comprobable entre la aplicación del extracto de *Pleurotus ostreatus* y la inhibición de *S. aureus*.

Respecto al Coeficiente de Cramer (0,551) indica una asociación moderada-fuerte. Aunque es menor que el obtenido para *E. coli* (0,792 en la Tabla 20), sigue demostrando que la concentración del extracto influye directamente en el tamaño del halo de inhibición.

Finalmente, al utilizar un nivel de confianza de 0,95 indica que se tiene un 95% de seguridad de que los resultados son verídicos.

CONCLUSIONES

1. El porcentaje de rendimiento del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* fue de 7,54%.
2. Se determinó que el extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* posee flavonoides, triterpenos y esteroides.
3. El extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* posee actividad antioxidante de 38,3 %.
4. Se evaluó el extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus*, concluyendo que posee una actividad antibacteriana significativa frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218, con una máxima eficacia en la concentración de 1000 mg/mL (halo promedio de 9,27 mm). Los resultados en la prueba de Chi-cuadrado (20,081), junto con el Coeficiente de Cramer (0,792), indicaron una asociación fuerte confirmando con un 95% de confianza que la inhibición observada es producto de la concentración de los metabolitos del extracto y no del azar.
5. Se evaluó el extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus*, concluyendo que posee una actividad antibacteriana significativa frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con una máxima eficacia en la concentración de 1000 mg/mL (halo promedio de 8,52 mm). Los resultados en la prueba de Chi-cuadrado (9,717), junto con el Coeficiente de Cramer (0,551), indicaron una asociación moderada-fuerte confirmando con un 95% de confianza que la inhibición observada es producto de la concentración de los metabolitos del extracto y no del azar.

SUGERENCIAS

- Se sugiere emplear otros disolventes para el proceso de extracción como, por ejemplo: Hexano, Metanol, Benceno, Cloroformo o Etanol de 70°.
- Se sugiere ampliar el tiempo de maceración de *Pleurotus ostreatus* para tener mejores resultados en la marcha química.
- Se sugiere experimentar con otras especies de hongos comestibles el efecto bactericida que podrían generar sobre las cepas *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Se sugiere utilizar otro método para la extracción, como el método Soxhlet.
- Se recomienda realizar el análisis químico por métodos cuantitativos para una determinación más exacta de los metabolitos secundarios de *Pleurotus ostreatus*.

BIBLIOGRAFIA

- Advanced Bacterial Identification Software online. (2020). *Staphylococcus aureus sp. Aureus*.
ABIS Enciclopedia. Recuperado de
<https://www.tgw1916.net/Staphylococcus/aureus.html>
- Adu, J. K., Amengor, C. D. K., Kabiri, N., Orman, E., Patamia, S. a. G., & Okrah, B. K. (2019).
*Validation of a simple and robust Liebermann–Burchard colorimetric method for the
assay of cholesterol in selected milk products in Ghana*. International Journal of Food
Science, 2019, (p. 1–7). <https://doi.org/10.1155/2019/9045938>
- American Type Culture Collection. (2020). *Escherichia coli (Migula) Castellani and Chalmers
35218™*. ATCC. Recuperado de <https://www.atcc.org/products/35218>
- American Type Culture Collection. (2013). *Staphylococcus aureus subsp. aureo Rosenbach
25923™*. ATCC. Recuperado de <https://www.atcc.org/products/25923>
- Anguiano, A. C. R. (2009). Estudio de las propiedades bioactivas de hongos comestibles para
el diseño de productos cárnicos funcionales (Tesis doctoral, Universidad Autónoma de
Madrid) Repositorio Institucional UAM. <https://repositorio.uam.es/handle/10486/117>
- Asociación Española de Pediatría. (s.f.). *Fosfomicina*, AEP. Consultado el 27 de Mayo de 2025,
de <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/fosfomicina>
- Ayala Aguilar, J. L. (2019). Efectividad antimicrobiana del extracto etanólico del *Taraxacum
officinale* (diente de león) al 50% y 100% sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.
(Trabajo de tesis, Universidad Central de Ecuador) Repositorio Institucional
Universidad Central de Ecuador.
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/20095/1/T-UCE-0015-ODO-266.pdf>
- Belloso, K., González, I., Suárez, R., & Cáceres, A. (2015). *Actividad antioxidante de extractos
de diez basidiomicetos comestibles en Guatemala*. Ciencia Tecnología y Salud (Vol. 2
Núm. 2) (pp. 29-36) <https://doi.org/10.36829/63cts.v2i2.65>

- Beltrán Y., Morris H., Ferrer J., Fong O., Garrido D. (2024) *Evaluación in vitro de la citotoxicidad, actividad antioxidante y antimicrobiana del sustrato agotado del hongo Pleurotus ostreatus*. Revista Cubana de Química (Vol.37.2025) (pp. 49-57)
<https://cubanaquimica.uo.edu.cu/index.php/cq/article/view/5417/4847>
- Bermejo, A., Pereira, S., Cintra, L., y Morales, G. (2014). *Determinación de parámetros químico-físico de las tinturas al 20% obtenidas de las hojas, tallos y frutos de Melia*. Scielo. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v13n5/rhcm04514.pdf>
- Bernal, A. T. (2019). *Combinación de compuestos fenólicos para inhibir la formación de biopelículas de Escherichia coli uropatógena en superficies de silicona. coordinación de tecnología de alimentos de origen vegetal. (Tesis doctoral, Universidad de México)*
Repositorio CIAD.
<https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/1159/1/Ariadna%20Thal%20%3C3%ADa%20Bernal%20Mercado.pdf>
- Britania (s.f.). *Fosfomicina 200 µg*. Britania. Consultado el 18 de Abril de 2025 de https://www.britanialab.com/productos/producto/36/discos_para_antibiograma_en_viales/-/787/fosfomicina_200_g
- Bush, L. M. (2023). *Infecciones por Staphylococcus aureus*. Manual MSD - Versión Para Público General. Consultado el 13 de Octubre de 2024 de <https://www.msmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-grampositivas/infecciones-por-staphylococcus-aureus>
- Bush, L. M., & Vazquez, M. T. (2022). *Infecciones por Escherichia coli*. Manual MSD Versión Para Profesionales. Consultado el 13 de Octubre de 2024 de <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-escherichia-coli>

Butler, D. L., Jakielaszek, C. J., Miller, L. A., & Poupard, J. A. (1999). *Escherichia coli* ATCC 35218 as a *Quality Control Isolate for Susceptibility Testing of Haemophilus influenzae with Haemophilus Test Medium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 43(2) (pp. 283–286). <https://doi.org/10.1128/aac.43.2.283>

BVS (s.f.) *Basic chemistry of the Shinoda test for flavonoids - Chemistry Stack Exchange*. BVS. Consultado el 09 de Diciembre de 2024 de <https://chemistry.stackexchange.com/questions/13891/basic-chemistry-of-the-shinoda-test-forflavonoids#:~:text=La%20prueba%20de%20Shinoda%20es,detectar%20la%20presencia%20de%20flavonas.&text=Tenga%20en%20cuenta%20tambi%C3%A9n%20que,las%20flavanonas%20producen%20color%20viol%C3%A1ceo>.

Castillo, I. (2015). *Evaluación de las propiedades inhibitorias del extracto de Pleurotus ostreatus sobre cepas de Staphylococcus aureus*. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de https://www.academia.edu/15108091/Evaluaci%C3%B3n_de_las_propiedades_inhbitorias_del_extracto_de_Pleurotus_ostreatus_sobre_cepas_de_Staphylococcus_aureus

CDC (2022) *Infección por estafilococo y influenza estacional*. Centers for Disease Control and Prevention. Recuperado de <https://www.cdc.gov/flu/signs-symptoms/flustaph.html>

CDC (2022) *La E. coli y la seguridad de los alimentos*. Centers for Disease Control and Prevention. Recuperado de <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/ecoli-and-food-safety.html>

Duarte Trujillo A., Pineda Insuasti J., García Juárez M., Gonzáles Trujillo A. (2018) *Pleurotus ostreatus: una seta con potencial. Pleurotus ostreatus: a mushroom with potential*. Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente. Recuperado de <https://cebaecuador.org/wp-content/uploads/2021/06/Biorrefineri%C3%A1a-02-2019-VERSION-COMPLETA-98-119.pdf>

- Effiong, M. E., Umeokwochi, C. P., Afolabi, I. S., & Chinedu, S. N. (2024). *Comparative antioxidant activity and phytochemical content of five extracts of Pleurotus ostreatus (oyster mushroom)*. Scientific Reports. (Vol 1) (p. 14). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54201-x>
- Elekofehinti, O. O., Iwaloye, O., Olawale, F., & Ariyo, E. O. (2021). *Saponins in Cancer Treatment : Current Progress and Future Prospects*. *Fisiopatologia*. (pp. 250–272). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pathophysiology28020017>
- Farfan E. & Tapia V. (2023) Determinación de la composición fitoquímica del extracto etanólico al 96% de tallos de *Taraxacum officinale* f. h. wigg y su efecto bactericida in vitro en cepas ATCC 35218 *Escherichia coli* y ATCC 25923 *Staphylococcus aureus aureus* (Trabajo de tesis, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco) Repositorio Institucional Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/7682>
- Flores Paucar, G. A. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de *Pleurotus ostreatus* ante cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Trabajo de tesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo) Repositorio Académico de la producción intelectual de la Comunidad Politécnica. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/6413>
- Flores Vera, M. E. (2021). Evaluación de la capacidad antioxidante del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) (Trabajo de tesis, Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca) Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/21284><https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/21284>

- García Vergara, Z., Paneque Díaz, Y., Macías González, A. A., & De la Caridad Rodríguez Guerrero, D. (2022). *Comparación de las propiedades antioxidantes del Pleurotus ostreatus antes y después de tratamientos térmicos*. Revista Científica Arbitrada de Investigación En Comunicación Marketing y Empresa REICOMUNICAR, 5(9), (pp. 221-232). <https://doi.org/10.46296/rc.v5i9.0045>
- Garrity, G., Bell, Julia. y Lilburn, Timothy. (2003) *Taxonomic Outline of the Procaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (pp. 117, 188) (2nd ed.) Springer-Verlag
DOI: 10.1007/bergeysoutline200310
- González, A., Ribas, R. y Burrola, C. (2021) *Actividad antioxidante de hongos silvestres consumidos tradicionalmente en el centro de México Antioxidant activity of wild mushrooms traditionally consumed in central Mexico*. Scientific Electronic Library Online. Recuperado de <https://www.scielo.org.mx/pdf/sf/v52/2594-1321-sf-52-e1410.pdf>
- Harfouch, R. M., & Ghosh, S. (2021). *Antibacterial Activities of Widely Spread Taraxacum Officinale Dandelion in Al-Qadmous, Syria as Potential Therapeutic Strategy for Antibiotic Resistant Bacteria*. ResearchGate. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/350140795_Antibacterial_Activities_of_Widely_Spread_Taraxacum_Officinale_Dandelion_in_Al-Qadmous_Syria_as_Potential_Therapeutic_Strategy_for_Antibiotic_Resistant_Bacteria
- Insst. (s. f.). *Staphylococcus aureus*. Portal Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Consultado el 09 de Diciembre de 2024 de <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/staphylococcus-aureus>

- Jessica I., Nieto J. A., Cuzcano R. A., Reyes L. W. (2020) *Estudio preliminar de la composición nutricional del hongo Pleurotus ostreatus cultivado en pulpa de café*. Scielo. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v85n4/2309-8740-rsqp-85-04-422.pdf>
- Juárez, J. I. N., Ruiz, Á. D. C., & López, W. A. R. (2019). *Composición nutricional del hongo Pleurotus ostreatus cultivado en pulpa de café*. Revista de la Sociedad Química del Perú, 85(4), (pp. 422-431). <https://doi.org/10.37761/rsqp.v85i4.256>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). *Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay*. Journal of Food Science and Technology, 48(4), (pp. 412–422). <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Khan, M. A., & Tania, M. (2012). *Nutritional and Medicinal Importance of Pleurotus Mushrooms: An Overview*. Food Reviews International, 28(3), (pp. 313-329). <https://doi.org/10.1080/87559129.2011.637267>
- Knop, D., Yarden, O., & Hadar, Y. (2014). The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. Applied Microbiology And Biotechnology, 99(3), (pp. 1025-1038). <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6256-8>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). *Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos*. Food Science And Technology, 25(4), (pp. 726-732) <https://doi.org/10.1590/s0101-20612005000400016>
- Lara, J. D. C., Daniela, C. L. J., Octavio, M. M. R., Del Pilar, M. D. P., Rosalinda, G. H., & Araceli, R. E. C. (2019). Análisis micoquímico y potencial terapéutico de *Pleurotus ostreatus*. (Trabajo de tesis, Universidad Autónoma de Zacatecas) Repositorio Institucional. <http://ricaxcan.uaz.edu.mx/jspui/handle/20.500.11845/2620>

- Lara, J. D. C., Márquez, R. O. M., Hernández, R. G., Araceli, C., Estrada, R., & Delgado, P. D. P. M. (2017). *Actividad antibacteriana de Pleurotus ostreatus*. Compendio Investigativo de Academia Journals Celaya. (pp. 990-995). https://www.researchgate.net/publication/322235757_ACTIVIDAD_ANTIBACTERIANA_DE_Pleurotus_ostreatus
- Lyndon, C. R., Yoshie, H. U., Noralba, S. M., & Diana, R. N. (2009). *Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (Strychnos schultesiana Krukoff)*. Scielo. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012007392009000100011
- Medsir. (2021). *La gírgola, un valioso hipocolesterolemiante, hipoglicemiante y antioxidante natural*. Convive Con el Cáncer. Recuperado de <https://conviveconelcancer.com/la-girgola-y-sus-propiedades-medicinales/>
- Mena Valdés, Licet, Tamargo Santos, Beatriz, Salas Olivet, Eva, Plaza Paredes, Luis Enrique, Blanco Hernández, Yisel, Otero González, Anselmo, & Sierra González, Gustavo. (2015). *Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de Sapindus saponaria L. (jaboncillo)*. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 20(1), (pp. 106-116). Consultado el 22 de agosto de 2025 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000100010&lng=es&tlng=es.

- Monzón Cruz, C. J. (2023). Evaluación de componentes bioactivos, capacidad antioxidante y análisis proximal del micelio de hongo (*Pleurotus ostreatus*) desarrollados en quinua (Trabajo de tesis, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac) Repositorio UNAMBA
https://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/1356/T_1356.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Mordor Intelligence. (2024). *Nutracéuticos Volumen del mercado*. Mordor. Recuperado de <https://www.mordorintelligence.com/es/industry-reports/global-nutraceuticals-market-industry>
- National Library of Medicine. (2021). *Infecciones por Escherichia coli*. NLM. Recuperado de <https://medlineplus.gov/spanish/ecoliinfections.html#:~:text=La%20mayor%C3%ADa%20de%20las%20E,renal%20y%20hasta%20la%20muerte.>
- Naturalist Mexico. (s. f.). *Hongo del cacahuete (Pleurotus ostreatus)*. Naturalist. Consultado el 18 de Marzo de 2025 de <https://mexico.inaturalist.org/taxa/48494-Pleurotus-ostreatus>
- NIH (2020) *Dragendorff's reagent: Historical perspectives and current status of a versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tartu, Estonia*. 75(7), (pp. 299–306). <https://doi.org/10.1691/ph.2020.0438>
- Olivera Delgado, L. I. & Gutierrez Felix, E. G. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana “in vitro” sobre cuatro cepas ATCC y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (q'eshua muña). (Trabajo de tesis, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco) Repositorio Institucional de Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
<https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/5580?locale-attribute=en>

- OMS. (2021) *Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS*. OPS/OMS Organización Panamericana de la Salud. Recuperado de <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>
- OMS. (2024) *La OMS publica un informe sobre el estado de desarrollo de antibacterianos*. OMS. Recuperado de <https://www.who.int/es/news/item/14-06-2024-who-releases-report-on-state-of-development-of-antibacterials>
- OMS (2025) *La OMS advierte de la resistencia generalizada en todo el mundo a antibióticos de uso habitual*. OMS. Recuperado de <https://www.who.int/es/news/item/13-10-2025-who-warns-of-widespread-resistance-to-common-antibiotics-worldwide>
- OMS (2018). *World Health Organization E. coli*. OMS Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- OMS (2023) *World Health Organization: Resistencia a los antimicrobianos*. OMS. Recuperado de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance#:~:text=La%20resistencia%20a%20los%20antimicrobianos%20\(RAM\)%20surge%20cuando%20las%20bacterias,enfermedades%2C%20de%20aparici%C3%B3n%20de%20formas](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance#:~:text=La%20resistencia%20a%20los%20antimicrobianos%20(RAM)%20surge%20cuando%20las%20bacterias,enfermedades%2C%20de%20aparici%C3%B3n%20de%20formas)
- OMS (2024) *World Health Organization: La OMS pone al día la lista de bacterias farmacorresistentes más peligrosas para la salud humana*. OMS. Recuperado de <https://www.who.int/es/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>
- Pérez, J. C. (2017). *Pleurotus ostreatus*. Asociación micológica Fungipedia, Catalogo de setas, Recuperado de <https://www.fungipedia.org/hongos/pleurotus-ostreatus.html>

- Piña, L. M. P., & Hinostroza, K. A. A. (2021). *Mecanismos de resistencia de Escherichia Coli en América Latina*. Revista Vive, 4(11), (pp. 203-216). <https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i11.88>
- Piñero, J., Sifaoui, I., López, A. (2015). *Desde el extracto crudo al compuesto puro. Universidad de la laguna*. Campus Virtual ULL. Recuperado de https://campusvirtual.ull.es/ocw/pluginfile.php/18761/mod_resource/content/2/OCW%20INES%20SIFAUI%20Final.pdf
- Reyes J., (2025) Evaluación de la composición química, contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y análisis sensorial de pastas enriquecidas con harina de hongos (*Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*) (Trabajo de tesis, Universidad Nacional Autónoma de México) Repositorio Institucional de la UNAM. <https://ru.dgb.unam.mx/server/api/core/bitstreams/6fd469a0-31de-4fc5-985f-05564c7fc8de/content#page=13&zoom=100,90,460>
- Rivero, A. K. C., Villena-Tejada, M., Ferchau, K. V., Cuba, I. B., Rojas, M. E. H., Tintaya, Y. M. H., ... & Mainicta, F. B. A. (2024). *Análisis proximal y características fitoquímicas de Agaricus bisporus y Pleurotus djamor colectados en la región Cusco, Perú*. Q'EUÑA, 15(1), (pp. 21-26). Recuperado de <https://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/RQ/article/view/1440/1656>
- Rojas Vallejos J., (2016) Producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café (Trabajo de tesis, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo) Repositorio Institucional. <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/873>
- Salgado, P., Gilsanz, F., & Maseda, E. (2015). *Tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas*. Revista española de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia, (Vol. 1) (pp. 12–15). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26365727>

- Sanchez & Figueroa (2022) *Fitoquímica*. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de <https://www.zaragoza.unam.mx/wpcontent/2022/Publicaciones/libros/cbiologia/Fitoquimica.pdf>
- Sánchez, J. y Royse, D. (2001) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* (p. 73) (1ª ed.) Uteha Noriega Editores
- Sepúlveda Jiménez, G., Porta Ducoing, H. & Rocha Sosa, M. (2003). *La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas*. Revista Mexicana de Fitopatología. (Vol. 21). Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/612/61221317.pdf>
- SIB (s. f.). *Pleurotus ostreatus* (Gírgola, Hongo Ostra). Sistema de Información de Biodiversidad. Consultado el 13 de Octubre de 2024 de <https://sib.gob.ar/especies/pleurotus-ostreatus>
- Sutthisa & Anujakkawan (2023) *Potencial antibacteriano del extracto de hongo ostra (Pleurotus ostreatus) contra bacterias patógenas*. Revista de Microbiología Pura y Aplicada, (Vol. 3) (pp. 1907-1915). <https://doi.org/10.22207/JPAM.17.3.56>
- Tome, R. C., (2022) Fructificación del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre un sustrato según su balance de relación C/N a base del césped residual de jardines. (Trabajo de tesis, Universidad Nacional Federico Villareal) Repositorio Institucional. <http://pdf.fructificacion-del-hongo-comestible-pleurotus-ostreatus-sobre-un-sustrato-segun-su-balance-de-relacion-c-n-a-base-del-cesped-residual-de-jardines.pdf>
- Trevenqueadmin. (2022). *Qué es un Rotavapor y Cómo Funciona*. Galileo Equipos. Consultado el 25 de Febrero de 2025 de https://www.galileoequipos.com/blog/como-funciona-un-rotavapor/?srsltid=AfmBOorH7kOLYGuf83qDeEJtFyw-_V8Ig-7soMdlSpvlYRBxSb9jSzjI

- Valencia del Toro, G., Garín Aguilar, M. E., Téllez Jaimes, M. Á., & Durán Páramo, E. (2008). *Actividad antibacteriana de extractos hexánicos de cepas de Pleurotus djamor*. Revista mexicana de micología, (pp. 119-123). Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802008000300014&lng=es&tlng=es.
- Vásquez Carrillo, M. J. (2010). Caracterización físico-químico proximal y evaluación de la actividad antioxidante del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) seco y durante el almacenamiento. (Trabajo de tesis, Universidad Nacional Agraria de la Selva) Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. <https://repositorio.unas.edu.pe/server/api/core/bitstreams/07ab113f-4c23-4204-a2e4-5f3588fb4020/content>
- Vazquez Pertejo, M. (2020). *Pruebas de sensibilidad o antibiogramas*. Manual MSD versión para profesionales. Consultado el 13 de Diciembre de 2024 de <https://www.msdmanuals.com/es-pe/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas#:~:text=El%20m%C3%A9todo%20de%20difusi%C3%B3n%20en,el%20microorganismo%20que%20est%C3%A1%20prob%C3%A1ndose>
- Villalba M., Niño D., Barraza B. y Medina A., (2021) *Pleurotus: Un hongo comestible con propiedades Nutricionales, Medicinales e Importancia Ambiental*. Unilibre. Recuperado de <https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/microciencia/article/view/10084>
- Werth, B. (2022). *Fosfomicina*. Manual MSD. Consultado el 25 de Febrero de 2025 de <https://www.msdmanuals.com/es-pe/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-y-f%C3%A1rmacos-antibacterianos/fosfomicina>

- Xu, P., Xu, X. B., Khan, A., Fotina, T., & Wang, S. H. (2021). *Antibiofilm activity against Staphylococcus aureus and content analysis of Taraxacum Officinale phenolic extract*. Polish journal of veterinary sciences 24(2), (pp. 243–251). <https://doi.org/10.24425/pjvs.2021.137659>
- Yakobi, S. H., Mkhize, S., & Pooe, O. J. (2023). *Screening of Antimicrobial Properties and Bioactive Compounds of Pleurotus Ostreatus Extracts against Staphylococcus Aureus, Escherichia coli, and Neisseria Gonorrhoeae*. Biochemistry Research International, 2023, (pp. 1-9). <https://doi.org/10.1155/2023/1777039>

ANEXOS

Anexo 1

Boleta de venta y ficha fungivoro de setas frescas de *Pleurotus ostreatus*

FUNGIVORO PERU S.A.C. CAL. LAS AGUILAS 284 INT. 3 DPTO. 803 URB. SANTA CECILIA BELLAVISTA - PROV. CONST. DEL CALLAO - PROV. CONST. DEL CALLAO		BOLETA DE VENTA ELECTRONICA RUC: 20612902845 EB01-132				
Fecha de Vencimiento : Fecha de Emisión : 21/07/2025 Señor(es) : ANA GABRIEL HUMPIRI ARANZÁBAL DNI : 71415062 Tipo de Moneda : SOLES Observación :						
Cantidad	Unidad Medida	Descripción	Valor Unitario(*)	Descuento(*)	Importe de Venta(**)	ICBPER
1.00	UNIDAD	SETAS FRESCAS P. OSTREATUS	76.271	0.00	89.99978	0.00
Otros Cargos : S/ 0.00 Otros Tributos : S/0.00 ICBPER : S/ 0.00 Importe Total : S/90.00						
(*) Sin impuestos. (**) Incluye impuestos, de ser Op. Gravada.						
						SON: NOVENTA Y 00/100 SOLES
						Op. Gravada : S/ 76.27
						Op. Exonerada : S/ 0.00
						Op. Inafecta : S/ 0.00
						ISC : S/ 0.00
						IGV : S/ 13.73
						ICBPER : S/ 0.00
						Otros Cargos : S/ 0.00
						Otros Tributos : S/ 0.00
						Monto de Redondeo : S/ 0.00
						Importe Total : S/ 90.00
Esta es una representación impresa de la Boleta de Venta Electrónica, generada en el Sistema de la SUNAT. El Emisor Electrónico puede verificarla utilizando su clave SOL, el Adquirente o Usuario puede consultar su validez en SUNAT Virtual: www.sunat.gob.pe , en Opciones sin Clave SOL/ Consulta de Validez del CPE.						

FUNGIVORO PERU S.A.C. CAL. LAS AGUILAS 284 INT. 3 DPTO. 803 URB. SANTA CECILIA BELLAVISTA - PROV. CONST. DEL CALLAO - PROV. CONST. DEL CALLAO	
NOMBRE CIENTIFICO: <i>Pleurotus Ostreatus</i> NOMBRES COMUNES: Orellana, girgola, seta de ostra, seta de chocho. CLASIFICACION: DOMINIO: Eucaria REINO: Fungi FILO: Basidiomycota CLASE: Homobasidiomycetes ORDEN: Agaricales FAMILIA: Pleurotaceae GÉNERO: Pleurotus ESPECIE: P. Ostreatus NOMBRE BINOMINAL: <i>pleurotus ostreatus</i>	 <div style="text-align: right;"> <p>OSTRA GRIS</p> <p>Fecha de producción: / /</p> <p>guardar refrigerado y usar hasta 1 mes día después de la fecha de producción</p> <p>NO USARLO Y COMO GUARDARLO</p> <p> • Productor: Fungivoro Perú SAC • Dirección: Lima, Perú • RUC: 20612902845 CONTACTO ☎ +51 947111942 📧 fungivoro.peru </p> </div>

Anexo 2

Certificado de la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218



GenLab
del Perú

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
12230 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6730
800.447.3761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis

Product Name: E. coli ATCC 35218 PK/5
Lot Number: 643858

Product Number: R4601971
Expiration Date: 2024-09-25
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Inc., a part of Thermo Fisher Scientific Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description.
Traditional staining is performed.

Characterization:

Organism exhibits characteristic biochemical, enzymatic, genotypical and/or biochemical reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4)

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Negative Rod

Identification Profile: MicroSEQ® or Vitek® 2

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

Anexo 3

Certificado de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

	GenLab del Perú	Thermo Fisher Scientific Microbiology 12076 Santa Fe Trail Drive 12210 Santa Fe Trail Drive Lenexa, KS 66215 800.255.6730 800.447.5761 fax www.thermofisher.com
Certificate of Analysis		
Product Name: S. aureus ATCC 25923 PK/5	Product Number: R4607010	
Lot Number: 662143	Expiration Date: 2024-10-31 (YYYY-MM-DD)	
<p>This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Inc., a part of Thermo Fisher Scientific Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.</p>		
Purity: Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.		
Viability And Quantification: Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.		
Macroscopic And Microscopic Morphology: Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.		
Characterization: Organism exhibits characteristic biochemical, enzymatic, genotypical and/or biochemical reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.		
CFU/loop: >10 ⁴	Passage: 3	
Gram Reaction: Gram Positive Cocci	Identification Profile: MicroSEQ® or Vitek® 2	
Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop		
pH: N/A		

Anexo 4

Preparación de caldo BHI (brain heart infusion) para la activación de cepas.

britannia[▲]britannialab.com

REF B0214705 REF B0214706

Cerebro Corazón Infusión Agar

IVD

USO
Medio sólido apropiado para el cultivo de bacterias y hongos, incluyendo los de difícil desarrollo.

FUNDAMENTO
Es un medio muy rico en nutrientes, que proporciona un adecuado desarrollo microbiano. La infusión de cerebro de ternera, la infusión de corazón vacuno y la peptona, son la fuente de carbono, nitrógeno, y vitaminas. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato disódico otorga capacidad buffer. El agar es el agente solidificante. El agar cerebro corazón mantiene los mismos principios que el caldo para el cultivo de estreptococos y otras bacterias exigentes. Puede ser suplementado con sangre ovina desfibrinada estéril o con sangre equina desfibrinada estéril, permitiendo así el desarrollo de hongos de difícil crecimiento. Con el agregado de 10% de sangre de caballo desfibrinada, fue utilizado para el crecimiento de *Histoplasma capsulatum* y de hongos patógenos. Por tratarse de un medio que contiene glucosa, no es un agar sangre apropiado para la observación de reacciones de hemólisis. Con el agregado de 20 UI de Penicilina y 40 µg/ml de estreptomina, se utiliza este medio para el aislamiento selectivo de hongos patógenos.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN
Código B0214705: envase x 100 g.
Código B0214706: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

INFUSIÓN DE CEREBRO DE TERNERA	200,0
INFUSIÓN DE CORAZÓN	250,0
PEPTONA	10,0
CLORURO DE SODIO	5,0
GLUCOSA	2,0
POSFATO DISÓDICO	2,5
AGAR	15,0
pH FINAL: 7,4 ± 0,2	

INSTRUCCIONES
Disolver 52 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición hasta su disolución total. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121°C. Distribuir en placas de Petri estériles.
En caso de preparar agar sangre, proceder de la siguiente manera: agregar 5-10 % de sangre ovina desfibrinada estéril (**Britasheep**) al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50 °C. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO
Medio de cultivo deshidratado: color beige, homogéneo, libre deslizamiento.
Medio de cultivo preparado: color ámbar claro.
Suplementado con sangre: color rojo.

ALMACENAMIENTO
Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.
Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO
Siembra
Directa, sobre la superficie del medio de cultivo por estría.

Incubación
El tiempo, la temperatura, y la atmósfera de incubación, dependerán del microorganismo que se quiera recuperar.
En general se recomienda:
Bacterias de fácil crecimiento: en aerobiosis, a 33-37 °C durante 18 a 24 horas.
Bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales: en atmósfera con 5 % de CO₂, a 33-37 °C durante 24-48 horas.
Hongos: en aerobiosis, a 20-25 °C hasta 7 días. Dependiendo del hongo puede requerirse mayor tiempo de incubación.

Anexo 5

Preparación de Agar Manitol Salado para siembra de cepa *Staphylococcus aureus* ATCC

25923

britannia[^] britannialab.com 

REF B0211805 REF B0211806

Manitol Salado Agar IVD

USO
Medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos a partir de diversas muestras. Su fórmula cumple con los requerimientos de la Armonización de Farmacopeas Europea, Japonesa y de los Estados Unidos de Norteamérica (EP, JP y USP respectivamente).

FUNDAMENTO
En el medio de cultivo, el extracto de carne, la peptona de carne y la triptena, constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales que promueven el desarrollo microbiano. El manitol es el hidrato de carbono fermentable. El cloruro de sodio (que se encuentra en alta concentración) es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de la flora acompañante, el rojo fenol es el indicador de pH y el agar es el agente solidificante.
Se trata de un medio altamente selectivo por la alta concentración salina y diferencial debido a la capacidad de fermentación del manitol por los microorganismos.
Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo. Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol.
Los estafilococos coagulasa positiva fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color.
Los estafilococos que no fermentan el manitol, se visualizan como colonias rojas, rodeadas de una zona del mismo color o púrpura.
Este medio de cultivo es recomendado para el aislamiento de estafilococos patógenos a partir de muestras clínicas, alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos y otros materiales de importancia sanitaria.
También puede utilizarse para el cultivo de especies halófilas de *Vibrio* si no se dispone de TCBS Medio (**britannia**[^]) aunque algunas especies pueden no desarrollarse.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN
Código B0211805: envase x 100 g.
Código B0211806: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

EXTRACTO DE CARNE.....	1.0
PEPTONA DE CARNE.....	5.0
TRIPTENA.....	5.0
MANITOL.....	10.0
CLORURO DE SODIO.....	75.0
ROJO DE FENOL.....	0.025
AGAR.....	15.0
pH FINAL: 7.4 ± 0.2	

INSTRUCCIONES
Suspender 111 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Reposar 5 minutos y calentar con agitación frecuente, llevando a ebullición durante 1 o 2 minutos para disolución total. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 118-121°C durante 15 minutos.
Enfriar y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO
Medio de cultivo deshidratado: color beige rosado, homogéneo, libre desilzamiento.
Medio de cultivo preparado: color rojo.

ALMACENAMIENTO
Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.
Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO
Siembra
Sembrar en superficie un inóculo denso de la muestra por estría.
Incubación
En aerobiosis, a 33-37 °C durante 18-24 hs. Si a las 24 horas las placas presentan resultado negativo, incubar otras 24 horas. La American Public Health Association (APHA) recomienda la incubación durante 3 días a 32 °C, en aerobiosis.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
Microorganismos fermentadores de manitol: colonias de color

Anexo 6

Preparación de Agar MacConkey para siembra de cepa *Escherichia coli* ATCC 35218

britania[▲] britanialab.com

REF B0211405 REF B0211406

Mac Conkey Agar

IVD

USO
Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos a partir de muestras clínicas, aguas y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae desarrollan en el mismo.
Su fórmula cumple con los requerimientos de la Armonización de Farmacopeas Europea, Japonesa y de los Estados Unidos de Norteamérica (EP, JP y USP respectivamente).

FUNDAMENTO
En el medio de cultivo, las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva. El agar es el agente solidificante.
Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares.
Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN
Código B0211405: envase x 100 g.
Código B0211406: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

PEPTONA DE CARNE	15
PEPTONA DE GELATINA	170
TRIPTEINA	15
LACTOSA	100
MEZCLA DE SALES BILIARES Nº3	15
CLORURO DE SODIO	50
ROJO NEUTRO	0.03
CRISTAL VIOLETA	0.001
AGAR	135

pH FINAL: 7.1 ± 0.2

INSTRUCCIONES
Suspender 50 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Reposar 5 minutos. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición 1 a 2 minutos hasta disolver completamente. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO
Medio de cultivo deshidratado: color beige rosado, homogéneo, libre deslizamiento.
Medio de cultivo preparado: color rojizo púrpura.

ALMACENAMIENTO
Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.
Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO
Siembra
En superficie: inocular directamente la muestra por estria.
En profundidad: inocular una alícuota de la muestra directa o de su dilución. Verter un volumen del medio de cultivo fundido y enfriado a 40-45°C. Homogeneizar mediante movimientos de vaivén y rotación. Dejar solidificar.

Incubación
En aerobiosis, a 33-37 °C durante 18-48 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
Microorganismos fermentadores de lactosa: colonias rosadas-rojizas. Puede observarse halo de precipitación biliar.
Microorganismos no fermentadores de lactosa: colonias del color del medio, incoloras.

Anexo 7

Preparación agar de Mueller Hinton para la replicación de bacterias

britania
britaniainlab.com

MUELLER HINTON AGAR

REF B0413784

IND

→ **USO**
Medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

FUNDAMENTO
Medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano. Por su composición, ha sido recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a sus múltiples ventajas y a una gran cantidad de evidencia científica que avala el uso de este medio de cultivo:
-presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad,
-su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo,
-la mayoría de los patógenos microbianos crece satisfactoriamente. Cuando se suplementa con sangre de camero al 5%, permite realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en especies de estreptococos. También, con el agregado de sangre puede utilizarse para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN
Código B0413784 6 frascos x 50 ml

FÓRMULA	
INFUSIÓN DE CARNE	100,0 G
PEPTONA ÁCIDA DE CASEÍNA	17,5 G
ALMIDÓN	1,5 G
AGAR	15,0 G
AGUA PURIFICADA	1000 ML
pH final: 7,3 ± 0,1	

Nota: La infusión de carne es equivalente a 3 g de polvo.

La fórmula puede ser ajustada y/o suplementada para cumplir los criterios de desempeño y aceptación de producto, cumpliendo su uso previsto.

INSTRUCCIONES
Colocar los frascos cerrados en baño maría y llevar a ebullición para fundir el medio de cultivo sólido contenido en los mismos. Una vez que se ha fundido el medio de cultivo, retirar cuidadosamente los frascos del baño maría y dejar enfriar. Cuando alcanzan temperatura 45-50 °C, abrírlos y distribuir asepticamente en placas de Petri, en cantidad suficiente para que el espesor del medio de cultivo se encuentre entre 3,5 a 4,5 mm por placa (para placas de Petri de 9 cm de diámetro corresponden entre 25 a 30 mL de medio de cultivo).

Preparación de Mueller Hinton Sangre Agar: agregar 5-10 % de sangre ovina desfibrinada estéril (REF Britasheep) al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50 °C. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO
Medio de cultivo color ámbar claro.
En caso de ser suplementado con sangre ovina: color rojo cereza.

ALMACENAMIENTO
Medio de cultivo listo para usar en frascos a 10-35 °C
Medio de cultivo preparado a 2-8 °C

PROCEDIMIENTO
Siembra
Hisopado en superficie.
El inóculo microbiano dependerá del grupo microbiano o microorganismo en estudio.

Incubación
La atmósfera, el tiempo y temperatura de incubación dependerán del grupo microbiano o microorganismo en estudio.

GRUPO MICROBIANO / MICROORGANISMO	INÓCULO MICROBIANO	INCUBACIÓN
Enterobacterias <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Crecimiento en medio líquido o suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis, a 35 ± 2°C durante 16 a 18 horas.
Enterococcus spp.	Crecimiento en medio líquido o suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis, a 35 ± 2°C durante 16 a 18 horas. Si un ensayo el disco de vancomicina 30 µg incubar 24 horas.
Acinetobacter spp. <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Multiphila</i>	Crecimiento en medio líquido o suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis, a 35 ± 2°C durante 20 a 24 horas.
<i>Staphylococcus</i> spp.	Suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis, a 35 ± 2°C durante 16 a 18 horas. En el caso que se ensayen los discos de oxalicina, con <i>Staphylococcus coagulans</i> negativa y en todos los casos al ensayar oxacilina y vancomicina, incubar las placas durante 24 horas.
<i>Vibrio cholerae</i>	Suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis a 35 ± 2°C durante 16 a 18 horas.
<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus</i> grupo viridans <i>Streptococcus</i> spp. Grupo Beta Hemolítico	Suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En atmósfera con 5 % de CO ₂ , a 35 ± 2 °C durante 20 a 24 horas.

Consultar en bibliografía de referencia según el microorganismo en cuestión.

LABORATORIO BRITANIA S.A.
LOS RÍOS 1515 - CIUDAD DE BUENOS AIRES - ARGENTINA
TEL: (011) 4382-4381

Anexo 8

Resultados de la marcha fitoquímica del extracto etanólico al 96 % de *Pleurotus ostreatus*

Ensayo	Método	Extracto Etanólico de <i>Pleurotus ostreatus</i>
Compuestos Fenólicos	Tricloruro de Hierro	-
Flavonoides	Shinoda	++
Alcaloides	Dragendorff	-
Triterpenos y Esteroides	Liebermann-Burchard	+
Saponinas	Espuma	-
Taninos	Gelatina	-

Abundante = +++, Poco = ++, Muy Poco = +, Ausente = -

Nota:
El ensayo fitoquímico realizado al extracto consistió en reacciones de coloración y/o precipitación, en el que se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios.

Referencia consultada

- Lock de Ugaz O. 1994. "Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio en los productos naturales" Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.



Químico, Jorge Chequentaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría - UNSAAC.
CQP - 914

Anexo 9

Resultados del método DPPH para la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96 % de *Pleurotus ostreatus*

Muestra	Lecturas						Promedio		Capacidad Antioxidante en %
	1	2	3	4	5	6	TEAC g/100g	TEAC mM/100gr	
Extracto Etanólico al 96% <i>Pleurotus</i>	1.093	1.134	1.121	1.163	1.150	1.156	1.1	4.5	38.3

TEAC = Capacidad Antioxidante en equivalentes Trolox

Condiciones de Análisis para Antioxidantes
Equipo : Espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón
Longitud de Onda : 517 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm
Ecuación de la curva patrón : $y = 0.04x + 0.012$, $R^2 = 0.9971$

Referencia consultada

- Norul Liza A-Rahaman, Lee Suan Chua, Mohamad Roji Sarmidi, Ramlan Aziz (2013) Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia Agricultural Sciences Vol.4, No.5B, 46-51.
- Philip Molyneux 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin J. Sci. Technol., 26(2) : 211-219.
- Pugliese A.G, Francisco A. Tomas-Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of Theobroma grandiflorum (Cupuassu) Pulp and Seeds J Agric Food Chem. 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u.



Quipico, Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría - UNSAAC.
CQP - 914

Anexo 10

Setas frescas de Pleurotus ostreatus



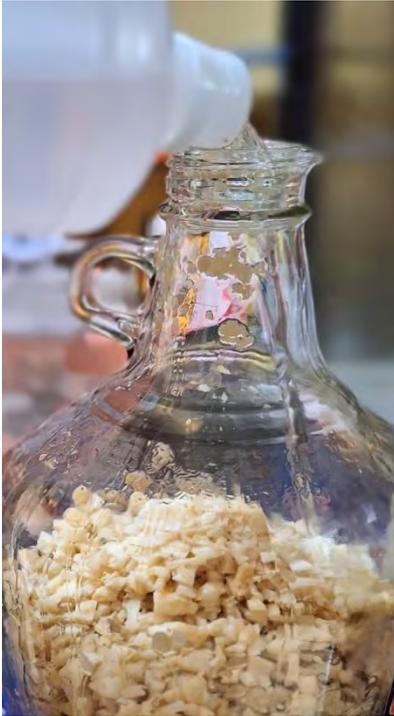
Anexo 11

Setas trituradas de Pleurotus ostreatus



Anexo 12

Adición del etanol al 96%



Anexo 13

Maceración de Pleurotus ostreatus



Anexo 14

Fotografía del extracto etanólico luego de ser filtrado y antes de iniciar el proceso de separación del etanol con la ayuda del rotavapor.



Anexo 15

Proceso de separación del etanol con la ayuda del rotavapor.



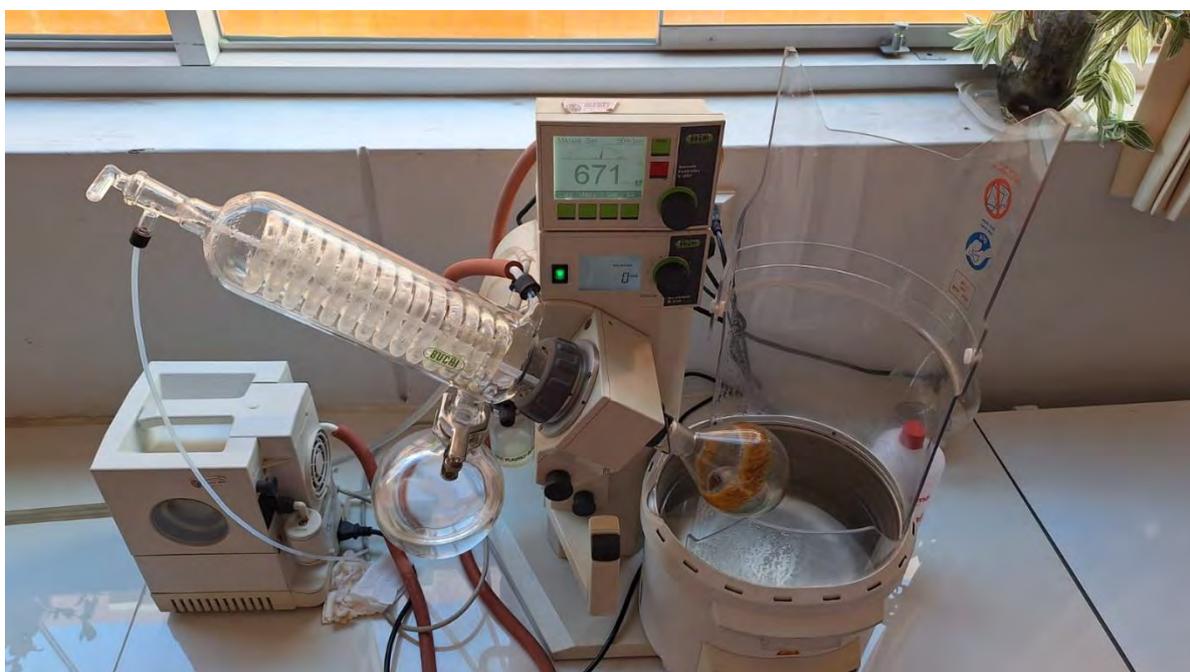
Anexo 16

Asesoramiento sobre el uso del Rotavapor



Anexo 17

Finalización del proceso en el rotavapor



Anexo 18

Obtención del extracto etanólico



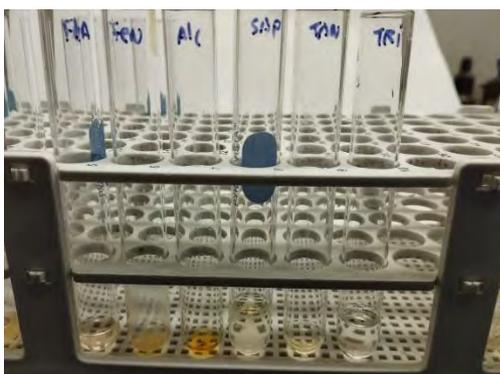
Anexo 19

Ultimas calibraciones e indicaciones sobre el rotavapor



Anexo 20

Reacciones a la gota para la marcha fitoquímica



Anexo 21

Pesaje del agar MacConkey



Anexo 22

Calentando el agar MacConkey para facilitar su disolución



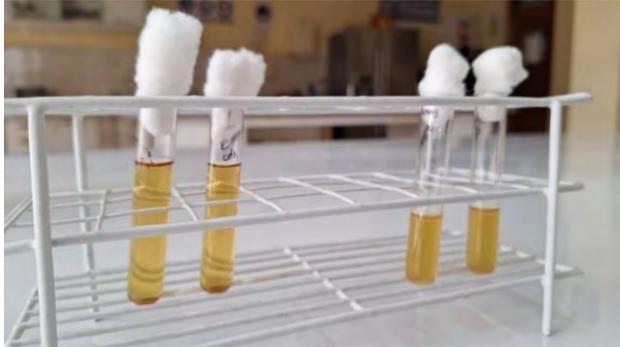
Anexo 23

Material para autoclavado



Anexo 24

Cepas de Escherichia coli ATCC 35218 y Staphylococcus aureus ATCC 25923 en el Caldo BHI



Anexo 25

Proceso de siembra de las Cepas de Escherichia coli ATCC 35218 y Staphylococcus aureus ATCC 25923



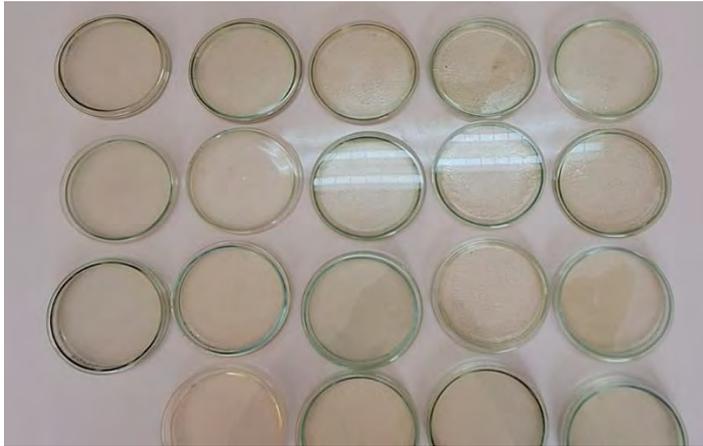
Anexo 26

Plaqueo de las placas con Agar Mueller Hinton



Anexo 27

Placas de Agar Muller Hinton



Anexo 28

Ajustando las suspensiones A y B a la escala MacFarland de 0.5



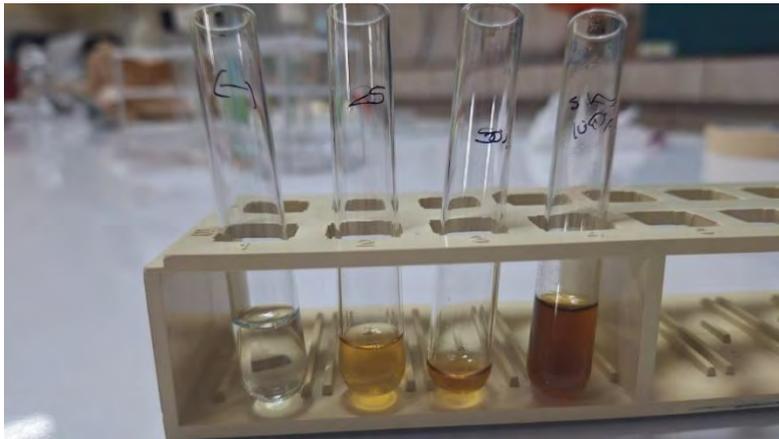
Anexo 29

Preparación de las concentraciones de 1000,500 y 250mg/mL del extracto etanólico



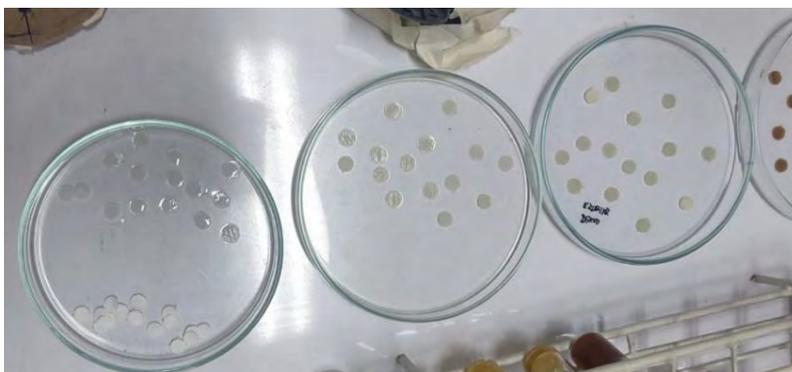
Anexo 30

Diluciones a concentraciones de 1000,500 y 250 mg/mL del extracto etanolico



Anexo 31

Discos impregnados con las diluciones del extracto etanólico al 96% de Pleurotus ostreatus a concentraciones de 1000,500 y 250 mg/mL



Anexo 32

Alistando materiales esterilizados



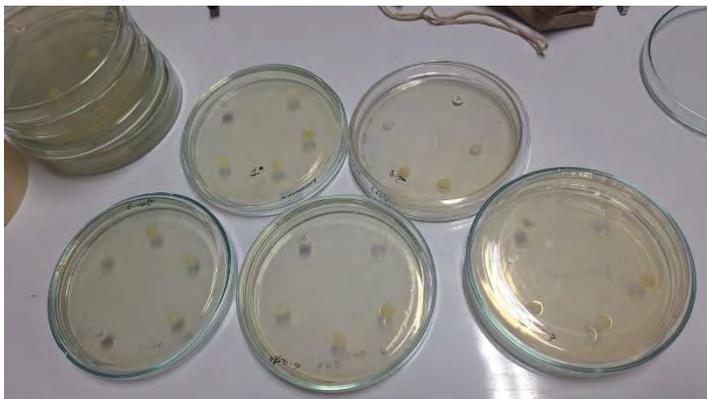
Anexo 33

Siembra del el inocular bacteriano en las placas de Muller Hinton



Anexo 34

Placas con los discos a diferentes concentraciones, fase experimental de la prueba de Kirby Bauer



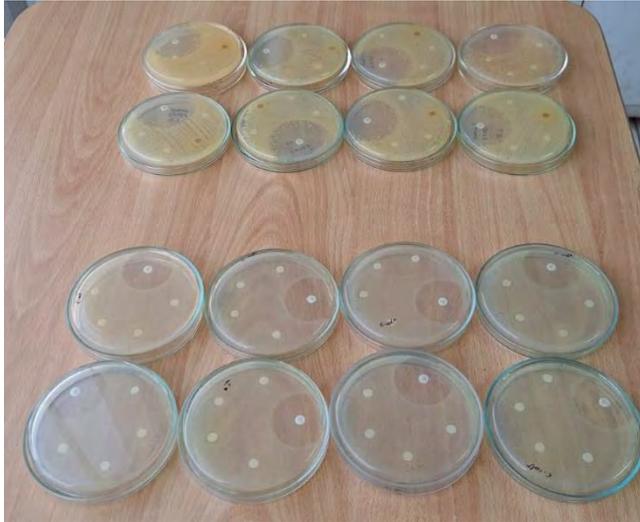
Anexo 35

Incubación de placas a 35 °C



Anexo 36

Resultado de la prueba de Kirby Bauer



Anexo 37

Resultados de la prueba de Kirby Bauer para Escherichia coli y Staphylococcus aureus

